



**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**NANOTECNOLOGIA E SUA APLICAÇÃO EM TERAPÊUTICA  
ONCOLÓGICA**

Trabalho submetido por  
**Sara Cristina Menicha Machado**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**outubro de 2018**





**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**NANOTECNOLOGIA E SUA APLICAÇÃO EM TERAPÊUTICA  
ONCOLÓGICA**

Trabalho submetido por  
**Sara Cristina Menicha Machado**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Ana Isabel Henriques Dias Fernandes Pinto**

**outubro de 2018**



## AGRADECIMENTOS

Não poderia deixar de agradecer a todos os que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta dissertação de mestrado. Sem o vosso incentivo e apoio, nada disto seria possível e por isso, estou eternamente grata.

Aos meus pais, Virgílio e Manuela, pelo constante apoio incondicional, incentivo, amizade e paciência. Obrigada pelos sacrifícios, pelo amor e por todos os conselhos e ensinamentos. Sem vocês não era aquilo que sou hoje e espero nunca vos desapontar.

À Catarina, mais do que irmã, uma amiga. Obrigada pela amizade, pelo carinho e companheirismo.

Aos meus avós pela compreensão, mimos e carinho que sempre demonstraram.

À minha colega e amiga, Inês Ribeiro, pela valiosa amizade ao longo destes 5 anos, desde o primeiro dia ao último. Agradeço a paciência, o companheirismo e todos os momentos de riso que me proporcionou.

Ao meu colega e amigo, Marco Correia, pelos conselhos, amizade e conversas que tornaram os meus dias mais alegres.

A todos os meus colegas que me acompanharam ao longo destes 5 anos e um agradecimento especial ao Nuno Santos, Soraia Garcia, Mónica Correia, Rafael Godinho e Telma Amorim. Agradeço a força, o companheirismo e a amizade.

Aos meus amigos Ana Ferro, Gonçalo Canha e Miguel Lopes. Obrigada pela preocupação, pela amizade e pelo “escape” que proporcionaram.

Por fim, um agradecimento sincero e muito especial à professora Ana Isabel Fernandes, pela orientação, apoio e disponibilidade dedicada a este projeto.



## RESUMO

A nanotecnologia e as suas aplicações em terapêutica oncológica têm despertado o interesse da comunidade científica. O cancro é um dos problemas globais mais difíceis e complexos de abordar, com taxas de mortalidade elevadas, e para o qual a prática clínica atual se revela insuficiente. Apesar do elevado número de opções terapêuticas, o problema reside na falta de especificidade e inerente toxicidade sistémica a que os doentes estão sujeitos, o que se traduz em taxas de sucesso variáveis e pode implicar elevados níveis de desgaste físico e emocional.

Com a evolução da nanotecnologia inicia-se uma nova era de veiculação de fármacos, que utiliza as características favoráveis e únicas das nanopartículas para melhorar a terapêutica oncológica. No entanto, enfrentam também múltiplos desafios e constante ceticismo sobre o seu verdadeiro valor terapêutico.

O objetivo desta revisão de literatura é dar a conhecer os conceitos de nanotecnologia e nanomedicina, quais as principais nanoplataformas e respetivas vantagens, os benefícios desta abordagem, os progressos obtidos na prática clínica e quais os principais obstáculos que a vertente “nano” enfrenta.

**Palavras-chave:** Nanotecnologia | Nanomedicina | Cancro | Terapêutica oncológica





## **ABSTRACT**

Nanotechnology and its applications in cancer therapy, has sparked the interest of the scientific community. Cancer remains one of the most difficult and complex global problems to tackle, with high mortality rates, and the current clinical practice is inadequate. Despite the large number of therapeutic options, the problem lies on the lack of specificity and inherent systemic toxicity of current drugs, which translates into variable success rates and may involve high levels of physical and emotional exhaustion for patients.

With the evolution of nanotechnology, a new era of drug delivery begins, using the unique and favorable characteristics of nanoparticles to improve cancer therapy. However, they also face numerous challenges and constant skepticism about their true therapeutic value.

The goal of this literature review is to introduce the concepts of nanotechnology and nanomedicine, what are the main nanoplateforms and its advantages, the benefits of this approach, the advances obtained in clinical practice and the main obstacles faced by the “nano” dimension.

**Keywords:** Nanotechnology | Nanomedicine | Cancer | Cancer therapy



## ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>1.1. Epidemiologia e etiologia .....</b>	<b>13</b>
<b>2. NANOTECNOLOGIA E NANOMEDICINA .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1. Definição.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2. Enquadramento histórico .....</b>	<b>21</b>
<b>2.3. Desenvolvimento de nanossistemas: Princípios -chave .....</b>	<b>23</b>
<b>2.3.1. Capacidade de carga .....</b>	<b>25</b>
<b>2.3.2. Farmacocinética .....</b>	<b>25</b>
<b>2.3.3. Destino Metabólico .....</b>	<b>26</b>
<b>2.3.4. Segurança .....</b>	<b>27</b>
<b>2.3.5. Estabilidade/Taxa de libertação do fármaco .....</b>	<b>27</b>
<b>2.4. Tipos de nanoplateformas .....</b>	<b>28</b>
<b>2.4.1. Nanopartículas lipídicas .....</b>	<b>29</b>
<b>2.4.2. Nanopartículas poliméricas .....</b>	<b>31</b>
<b>2.4.3. Dendrímeros .....</b>	<b>33</b>
<b>2.4.4. Nanopartículas proteicas .....</b>	<b>34</b>
<b>2.4.5. Nanopartículas magnéticas: SPIONS.....</b>	<b>35</b>
<b>2.4.6. Nanopartículas cerâmicas.....</b>	<b>36</b>
<b>2.4.7. Nanopartículas metálicas.....</b>	<b>37</b>
<b>2.4.8. <i>Quantum Dots</i>.....</b>	<b>39</b>
<b>2.4.9. Fullerenos e Nanotubos de Carbono.....</b>	<b>40</b>
<b>3. NANOMEDICINA NA DOENÇA ONCOLÓGICA.....</b>	<b>43</b>
<b>3.1. Características fisiológicas e patológicas que condicionam a terapêutica.....</b>	<b>44</b>
<b>3.1.1. Vascularização sanguínea anormal e hipertensão intersticial.....</b>	<b>44</b>
<b>3.1.2. <i>Stress</i> induzido pelo crescimento tumoral e matriz extracelular .....</b>	<b>46</b>
<b>3.1.3. <i>Clearance</i> através do Sistema Mononuclear Fagocitário (SMF).....</b>	<b>47</b>
<b>3.2. Vetorização de fármacos.....</b>	<b>47</b>
<b>3.2.1. Vetorização passiva .....</b>	<b>48</b>
<b>3.2.2. Vetorização ativa .....</b>	<b>50</b>
<b>3.3. Perspetiva do mercado.....</b>	<b>52</b>
<b>4. QUESTÕES DE SEGURANÇA, ÉTICAS E REGULAMENTARES .....</b>	<b>57</b>
<b>5. CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS .....</b>	<b>63</b>
<b>6. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>65</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Taxa de incidência e mortalidade, a nível mundial, em 2012, ambos os sexos, padronizadas por idade .....	14
<b>Figura 2:</b> Previsão da evolução da incidência de cancro em Portugal .....	15
<b>Figura 3:</b> Taxa de incidência de cancro por grupo etário e sexo (2010) .....	16
<b>Figura 4:</b> Cronograma da evolução da nanomedicina. ....	23
<b>Figura 5:</b> Metodologia de design, otimização e seleção de um candidato para desenvolvimento pré-clínico.....	24
<b>Figura 6:</b> Diferentes tipos de nanoplateformas .....	28
<b>Figura 7:</b> Representação esquemática de diferentes tipos de sistemas de veiculação lipossomais .....	29
<b>Figura 8:</b> Exemplos de Nanopartículas Poliméricas .....	32
<b>Figura 9:</b> Exemplos de nanopartículas produzidas através da técnica PRINT™ .....	32
<b>Figura 10:</b> Representação esquemática de um dendrímero .....	34
<b>Figura 11:</b> Multifuncionalidade das nanopartículas de sílica mesoporosa.....	37
<b>Figura 12:</b> Diferentes abordagens de partículas de ouro no diagnóstico e tratamento do cancro.....	38
<b>Figura 13:</b> Imagens de fluorescência <i>in vivo</i> de ratinhos com tumores. ....	40
<b>Figura 14:</b> Exemplos de estruturas de fulerenos .....	41
<b>Figura 15:</b> Diagrama representando SWCNT e MWCNT .....	42
<b>Figura 16:</b> Barreiras que interferem com a veiculação de fármacos a células tumorais	45
<b>Figura 17:</b> Efeito EPR .....	48
<b>Figura 18:</b> Diferentes estratégias de vetorização ativa.....	51
<b>Figura 19:</b> Representação da interação de NP de ouro com ligandos multivalentes.....	52



## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela I:</b> Aplicação de nanotecnologia na terapêutica oncológica: exemplos de nanomedicamentos aprovados por diferentes agências reguladoras e também em fase de ensaios clínicos .....	54
---	----





## LISTA DE ABREVIATURAS

**CE** – Comissão Europeia  
**DOX** – Doxorubicina  
**EGFR** – Recetor do fator de crescimento epidérmico  
**EMA** – Agência Europeia do Medicamento  
**EPR** – *Enhanced permeability and retention effect*  
**ESF** – *European Science Foundation*  
**ETPN** - *European Technology Platform on Nanomedicine*  
**EUNCL** - *European Nanomedicine Characterisation Laboratory*  
**FDA** – *Food and Drug Administration*  
**HA** – Hidroxiapatite  
**IARC** – *International Agency for Research on Cancer*  
**LDC** – Conjugado lípido fármaco  
**MET** – Microscopia eletrónica de transmissão  
**MEV** – Microscopia eletrónica de varrimento  
**MRI** – Ressonância magnética  
**MWCNT** – *Multiwalled carbon nanotube*  
**NCL** - *Nanotechnology Characterisation Laboratory*  
**NLC** – Transportadores lipídicos nanoestruturados  
**NLS** – Nanopartículas lipídicas sólidas  
**NP** – Nanopartícula  
**OMS** - Organização Mundial de Saúde  
**PAMAMs** - Poliamidoaminas  
**PEG** – Polietilenoglicol  
**PLA** – Ácido polilático  
**PLGA** - Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico)  
**PRINT<sup>TM</sup>** – *Particle replication in nonwetting templates*  
**PDT** – Terapia fotodinâmica  
**PTT** – Terapia fototérmica  
**PSMA** – *Prostate Specific Membrane Antigene*  
**PTX** – Paclitaxel  
**QD** – *Quantum Dots*  
**ROS** – Espécies reativas de oxigénio  
**SMF** – Sistema mononuclear fagocitário  
**SPIONS** – Nanopartículas superparamagnéticas de óxido de zinco  
**SWCNT** – *Single walled carbon nanotube*  
**VIH** – Vírus da Imunodeficiência Humana  
**VPH** – Vírus do Papiloma Humano



## **1. INTRODUÇÃO**

O cancro é uma das principais causas de morte a nível mundial. De acordo com a OMS, no ano de 2012, cerca de 8,2 milhões de indivíduos faleceram vítimas de cancro. Dentro de uma década é expectável que a incidência de novos casos suba de 14 milhões em 2012 para cerca de 20 milhões (Wild, Stewart, & Wild, 2014; IARC, 2016).

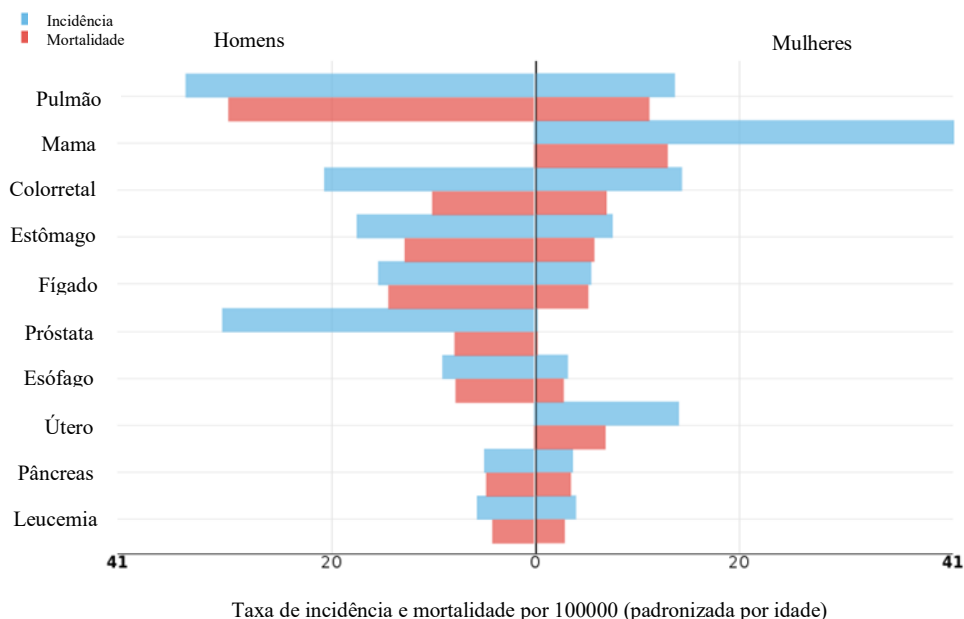
Cancro é um termo genérico utilizado para designar um vasto grupo de doenças que podem afetar qualquer parte do corpo. Trata-se de uma doença multifatorial caracterizada por um “crescimento descontrolado, excessivo e indefinido das células afetadas, cuja proliferação não pode ser adequadamente controlada pelos mecanismos reguladores que operam nos tecidos normais” (Mota Pinto, 2013, p.293). Habitualmente, o número de células de um determinado tecido é devidamente regulado por processos celulares que levam à morte celular programada por apoptose das células envelhecidas. Essas células serão substituídas por novas – células estaminais – que sofrem processos de divisão e diferenciação de modo a se tornarem células funcionais. A manutenção do equilíbrio entre a divisão celular e a apoptose é algo delicado. Em situações cancerígenas verifica-se a produção de um número excessivo de células, associada a uma divisão celular descontrolada e a uma diminuição da eliminação por apoptose. As células neoplásicas escapam aos mecanismos de controlo e podem rapidamente invadir tecidos contíguos e, eventualmente, metastisar outros órgãos (World Health Organization, 2002; Mota Pinto, 2013).

Adicionalmente, esta patologia implica também um elevado desgaste físico, psicológico e social, representando inúmeros encargos para o doente, para a família, para a sociedade e para o Estado.

### **1.1. Epidemiologia e etiologia**

Atualmente, sabe-se que a incidência do cancro pode variar com diversos fatores. Condições geográficas, socioeconómicas, estilos de vida e até mesmo fatores genéticos, são apenas alguns dos exemplos.

Analisando as taxas de incidência e mortalidade e reconhecendo alguns dos fatores de risco é possível obter uma perspetiva da situação mundial. Na Figura 1 podemos visualizar as taxas de incidência e mortalidade dos tipos de cancro que mais afetam a população a nível mundial.

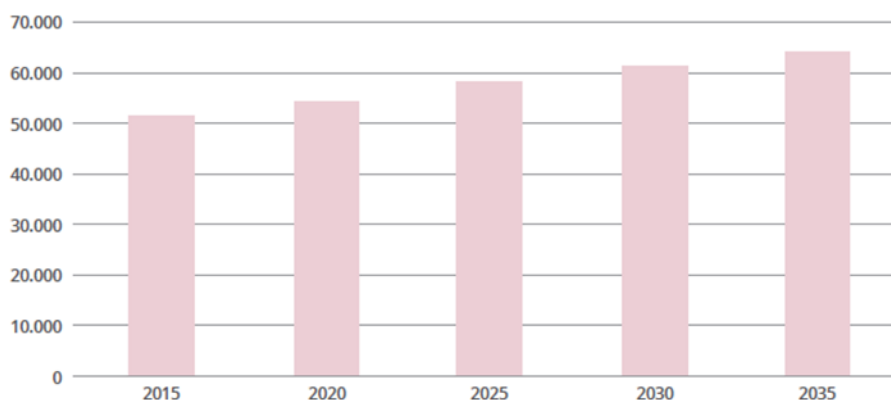


**Figura 1:** Taxa de incidência e mortalidade, a nível mundial, em 2012, ambos os sexos, padronizadas por idade (International Agency for Research on Cancer, 2018)<sup>1</sup>

Dados de 2012 indicam que cerca de 15% da totalidade de mortes a nível mundial foram causadas pelo cancro, sendo os mais mortais: pulmão (1,6 milhões de mortes), fígado (740000 mortes), estômago (720000 mortes), colorretal (690000 mortes) e mama (520000 mortes) (IARC, 2016).

Em Portugal temos assistido, à semelhança do que ocorre no resto do mundo, a um aumento regular da incidência do cancro (Figura 2). O aumento da esperança média de vida, aliado a múltiplos fatores, incluindo as taxas de sucesso no tratamento não apenas do cancro, mas também de outras patologias, tem permitido o aumento da probabilidade de desenvolver novas neoplasias (Miranda & Portugal, 2016).

<sup>1</sup> - As taxas de incidência e mortalidade são padronizadas por idade de modo a uniformizar as diferentes faixas etárias



**Figura 2:** Previsão da evolução da incidência de cancro em Portugal (Miranda & Portugal, 2016)

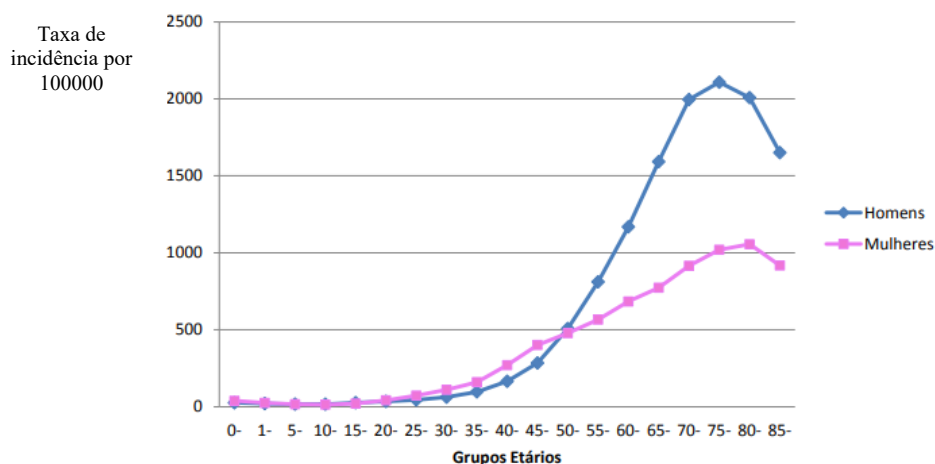
Hoje em dia já existe diversa informação sobre a etiologia do cancro. A maioria dos cancros não é simplesmente uma sequela geneticamente determinada, mas sim um conjunto de manifestações de comportamentos pessoais e culturais aliados à suscetibilidade hereditária individual (Mota Pinto, 2013).

A prevalência de determinadas características fisiológicas hereditárias, a acumulação de mutações somáticas não corrigidas durante a vida e até mesmo alguns genes herdados podem favorecer o aparecimento desta patologia. Inúmeros estudos têm sido realizados sobre cancros hereditários, sendo os genes herdados responsáveis por cerca de 5% a 10% dos casos de cancro (Lu et al., 2014). Não obstante, a genética tem demonstrado um papel crucial no controlo da patologia como, por exemplo, a identificação de indivíduos e familiares em risco de desenvolvimento de neoplasias malignas. Tal identificação permite a implementação de estratégias de prevenção ou até mesmo a identificação mais detalhada do tipo de cancro de modo a realizar um tratamento mais específico (World Health Organization, 2002).

Todo o processo de transformação de células normais em células tumorais é constituído por múltiplas fases e geralmente progride de uma lesão pré-cancerígena para um tumor maligno. Tal como mencionado, estas alterações são o resultado da interação entre a pré-disposição genética do próprio indivíduo e três categorias de agentes externos, incluindo: 1) carcinogénicos físicos, tais como radiação ionizante e ultravioleta; 2) carcinogénicos químicos, como por exemplo, componentes do fumo do tabaco e 3) carcinogénicos biológicos, tais como infeções provocadas por determinados vírus, bactérias ou parasitas (World Health Organization, 2002; Mota Pinto, 2013).

Existe também evidência que invariavelmente correlaciona a adoção de determinados estilos de vida e de comportamentos de risco ao aparecimento de diversas malignidades. De acordo com a OMS (2016), cerca de 30 a 50% dos cancros podem ser evitados se houver um maior controlo dos fatores de risco, tais como: tabagismo, consumo de álcool, dieta pouco saudável, com baixa ingestão de frutas e vegetais, obesidade ou excesso de peso, inatividade física, infeção por VPH, infeção pelo vírus da hepatite, entre outros. O tabaco é o fator de risco com mais impacto, sendo responsável por cerca de 22% das mortes globais por cancro (Ezzati, Lopez, Rodgers, Vander, & Murray, 2002; IARC, 2016).

Outro fator relacionado com o cancro é a idade. Apesar de o cancro poder afetar qualquer indivíduo, de qualquer idade, há uma pré-disposição, em indivíduos de faixas etárias mais avançadas para o aparecimento de neoplasias malignas (Figura 3). De acordo com Netto (2002), o envelhecimento é considerado um processo natural, dinâmico e progressivo. Verificam-se alterações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e psicológicas que causam maior vulnerabilidade e que resultam numa maior incidência de processos patológicos associados à perda progressiva da capacidade de adaptação do indivíduo ao meio ambiente. A acumulação de risco de desenvolvimento de neoplasias malignas é combinada com a tendência de declínio do sistema imunitário e com a diminuição de eficácia que os mecanismos de reparação celular apresentam nestas faixas etárias mais avançadas (IARC, 2016; White et al., 2014; World Health Organization, 2002).



**Figura 3:** Taxa de incidência de cancro por grupo etário e sexo (2010) (Registo Oncológico Nacional, 2016)

Atualmente, as terapias convencionais utilizadas para o tratamento do cancro permanecem num impasse tecnológico. De um modo geral, as terapêuticas são as mesmas de há décadas atrás e consistem essencialmente na combinação de disseção cirúrgica, quimioterapia e radioterapia. Apesar dos avanços tecnológicos que se têm verificado nestas técnicas, a prática permanece longe do ideal, face a diversos inconvenientes, tais como: distribuição sistémica não específica de agentes tumorais, concentrações inadequadas de fármaco que atingem o tumor, citotoxicidade intolerável, capacidade limitada de monitorizar a resposta à intervenção terapêutica, possibilidade de reincidência e desenvolvimento de células cancerígenas resistentes à terapia. Adicionalmente, os métodos de diagnóstico e prognóstico são insuficientes face às necessidades de previsão da eficácia da terapêutica e dos possíveis resultados para o doente (Misra, Acharya, & Sahoo, 2010; Parreira & Eugénio, 2011).

A nanotecnologia é uma área que nos últimos anos tem emergido como uma das mais promissoras em diversas áreas, incluindo a oncologia. Proporciona novas formas de abordagem da doença e interrelaciona áreas de biologia, engenharia e medicina, sendo expectável que lidere avanços significativos na área da oncologia, nomeadamente no tratamento oncológico.





## **2. NANOTECNOLOGIA E NANOMEDICINA**

### **2.1. Definição**

Nos últimos anos, termos como nanotecnologia, nanomedicina e nanopartícula (NP) têm sido alvo de inúmeras e distintas definições. Não existe uma definição universalmente aceita, o que não é algo surpreendente, uma vez que se trata de uma área recente e multidisciplinar, com a intervenção de diferentes entidades e disciplinas científicas.

A Nanotecnologia é a ciência que se debruça sobre a compreensão e o controle da matéria a dimensões entre 1 a 100 nanômetros, onde fenômenos únicos possibilitam novas aplicações. Envolvendo diferentes técnicas de engenharia e tecnologia, a nanotecnologia implica a cooperação de diferentes áreas tais como imagiologia, medição, modelação e manipulação de nanomateriais. A investigação em Nanotecnologia está direcionada para a criação e exploração de materiais, dispositivos e sistemas melhorados que explorem essas propriedades. Deste modo, trata-se de um ramo da ciência transversal a diversos domínios científicos – Materiais, Biotecnologia, Eletrónica, Computação - que engloba todas as tecnologias e processos que manipulam ou exploram materiais à nanoescala, permitindo avanços significativos em áreas que, não sendo novas, começam a ser reinventadas (Fatal & Eugénio, 2010; Satalkar, Elger, & Shaw, 2016). No entanto, os debates entre diferentes entidades reguladoras e comunidades científicas relativamente à nano nomenclatura, quais as dimensões exatas da nanoescala e do que se pode considerar um nanomaterial, permanecem não uniformizados. As definições de nanopartículas mais comumente utilizadas, apoiadas por opiniões de alguns grupos académicos, consideram que uma determinada partícula, para ser classificada como nanomaterial, tem de ter dimensões compreendidas entre 1 e 100 nm. No entanto, esta definição não é a mais cientificamente correta, uma vez que não engloba adequadamente todos os nanomateriais. Para além das dimensões, outras características, tais como propriedades físico-químicas e farmacodinâmicas, causam algumas incertezas e discordâncias destes termos na comunidade científica (Duncan & Gaspar, 2011; Satalkar et al., 2016).

Tendo em conta o impacto que esta tecnologia poderá causar na qualidade de vida de futuras gerações, a saúde e a biotecnologia são as áreas em que se concentram as maiores expectativas sobre as potencialidades da nanotecnologia.

A nanomedicina pode ser definida como a aplicação da nanotecnologia na área da saúde. A *European Science Foundation* (ESF) define-a como “a ciência e a tecnologia de diagnosticar, tratar e prevenir doenças e lesões traumáticas, aliviar a dor, bem como preservar e melhorar a saúde, utilizando ferramentas moleculares e conhecimento molecular do corpo humano” (ESF, 2004, p.11). Esta definição permite englobar três principais áreas da nanotecnologia que têm sido desenvolvidas para aplicações na área da saúde:

1. Diagnóstico, biossensores e ferramentas cirúrgicas que são utilizadas no exterior do doente;
2. Agentes de imagem e tecnologias de monitorização que podem ser utilizados para diagnóstico;
3. Tecnologias e biomateriais inovadores (com possibilidade de serem combinados com terapia celular) que são utilizados para veiculação de fármacos, engenharia de tecidos e para reparação tecidular. Algumas aplicações requerem apenas manipulações *ex vivo*, mas a maioria permite que a administração ao doente possa ser efetuada utilizando diferentes vias de administração (exemplo: tópica, oral, parental, pulmonar, implante cirúrgico, etc.) (Duncan & Gaspar, 2011).

Adicionalmente, de acordo com o relatório “*Nanomedicine: Drivers for development and possible impacts*” (CE, Joint Research Center, 2006) do centro de pesquisa da Comissão Europeia (CE), a nanomedicina inclui também: (1) nanopartículas (NP) para aplicação médica com dimensões que variem entre 1 e 1000 nm; (2) *biochips*, classificados como nanotecnologia caso incluam componentes nanométricos; (3) polímeros terapêuticos.

A nanomedicina tem sofrido uma evolução exponencial ao longo da última década, sendo que algumas destas nanoterapias já são hoje utilizadas e outras prometem avanços significativos em aplicação clínica. Conforme mencionado atrás, trata-se de uma área que utiliza ferramentas da nanotecnologia para o diagnóstico, prevenção e tratamento da doença, bem como para um melhor conhecimento e compreensão acerca dos processos fisiopatológicos da mesma. Engloba diversas áreas e distintas aplicações: nanomedicamentos (desenvolvidos, quer como sistemas de veiculação de fármacos,

quer como medicamentos biologicamente ativos), nanoagentes de imagiologia e diagnóstico (Duncan & Gaspar, 2011; Hafner, Lovrić, Lakoš, & Pepić, 2014).

## 2.2. Enquadramento histórico

Descobertas de pioneiros como Michael Faraday que descreveu e caracterizou soluções coloidais de ouro, Ilya Metchnikov que estudou o sistema imunitário e Paul Ehrlich que explorou os conceitos de diagnóstico celular específico e terapêuticas direcionadas a células-alvo, foram importantes pontos de partida para o desenvolvimento da nanotecnologia (Duncan & Gaspar, 2011). Adicionalmente, no início do século XX, Paul Ehrlich introduziu o conceito de “bala mágica”, à qual eram adicionados determinados fármacos e que eram direcionados especificamente a células afetadas pela doença. A utilização desta técnica com o agente antimicrobiano *Salvarsan* pode ser considerado como o ponto de partida para a moderna vetorização de fármacos (Krukemeyer, Krenn, Huebner, Wagner, & Resch, 2015).

Ao longo do século XX, outros avanços importantes a nível científico, tais como o desenvolvimento de microscopia de alta resolução, uma melhor compreensão dos mecanismos celulares (células, constituintes, processos intra e intercelulares), a descrição e compreensão das estruturas de DNA e RNA aliados aos avanços nas áreas de bioquímica e biotecnologia, admitiram novas possibilidades de pensar nano. Permitiu não apenas demonstrar mais precisamente as estruturas à nanoescala, mas também posicioná-las e manipulá-las de forma adequada (Krukemeyer et al., 2015).

A partir da segunda metade do século XX começaram a surgir os primeiros nanomedicamentos, sempre acompanhados de algum ceticismo por parte da comunidade científica e da indústria devido ao seu tamanho (“pequenas moléculas curam doenças?”), aplicabilidade clínica e viabilidade económica (Duncan & Gaspar, 2011).

A promoção da investigação inter e multidisciplinar levou ao desenvolvimento de nanomedicamentos como **lipossomas** (Bangham, Standish, & Watkins, 1965; Bangham, 1993), **dendrimeros** (C. C. Lee, MacKay, Fréchet, & Szoka, 2005),

**nanopartículas e nanocápsulas** (Couvreur, Tulkens, Roland, Trouet, & Speiser, 1977) e **conjugados poliméricos** (Langer & Folkman, 1976).

A evolução das plataformas nanométricas passou pela modificação da superfície das mesmas utilizando polímeros de polietilenoglicol (PEG). Isto permitiu a prevenção da ligação inespecífica a componentes do sangue e, consequentemente, reduzir a intervenção das células do sistema fagocítico monocelular, permitindo aumentar o tempo de semivida das mesmas (Kamaly, Xiao, Valencia, Radovic-Moreno, & Farokhzad, 2012).

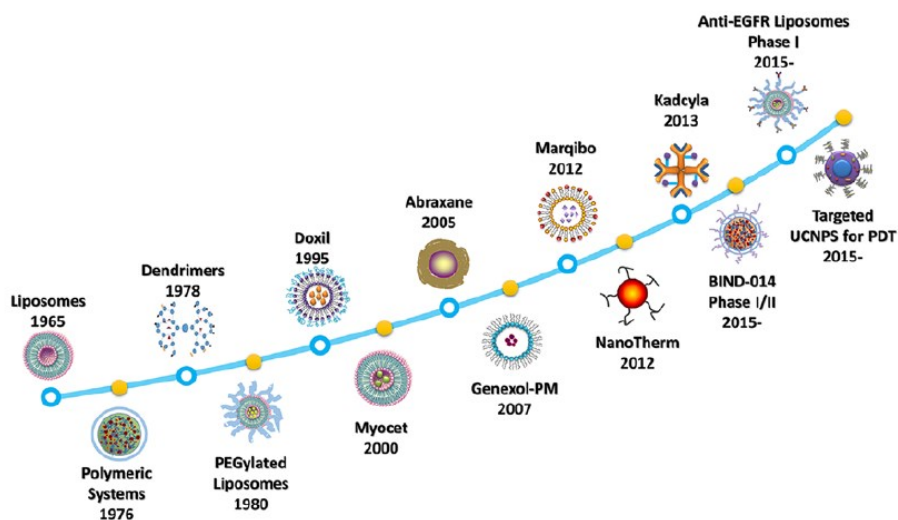
Em 1995 surge o DOXIL<sup>®</sup>, a primeira formulação lipossomal de doxorrubicina (DOX) aprovada pela US Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento do sarcoma de Kaposi associado ao HIV. A encapsulação da doxorrubicina em lipossomas permitiu a alteração da farmacocinética e da biodistribuição do fármaco, aumentando o tempo de semivida, conduzindo a uma maior concentração de DOX, com uma consequente melhoria da eficácia e uma redução da toxicidade (Kamaly et al., 2012; Udhrain, Skubitz, & Northfelt, 2007).

Com o desenvolvimento tecnológico que se seguiu, surgiu a oportunidade de aumentar a especificidade das NP através da conjugação com alguns ligandos de afinidade, tais como anticorpos, fragmentos de anticorpos, péptidos, aptâmeros, açúcares e pequenas moléculas (Kamaly et al., 2012). Seguiu-se o aparecimento de conjugados **anticorpo-fármaco** (Wilchek, Levy, Maron, Arnon, & Sela, 1975), **albumina-fármaco** (Trouet, Masquelier, Baurain, & Deprez-De Campeneere, 1982) e de **blocos micelares copoliméricos** (Yokoyama et al., 1990).

Deste modo, surgiu o Abraxane<sup>®</sup>, um conjugado nanopartícula-proteína, em que nanopartículas de paclitaxel (PTX) são acopladas a albumina sérica humana. Este fármaco foi aprovado pela FDA em 2005 para tratamento do cancro da mama, pulmão e pâncreas. Outra nanoplataforma de 1ª geração a ser desenvolvida foi o Genexol-PM<sup>®</sup>, uma micela polimérica PEG-PLA, aprovada na Coreia em 2007 (Z. Li, Tan, Li, Shen, & Wang, 2017). Mais recentemente, em 2013, foi aprovado um conjugado anticorpo-fármaco, transtuzumab emtansina, Kadcyla<sup>®</sup>, para pacientes com cancro da mama que possuam o recetor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER-2) (Z. Li et al., 2017).

Começaram também a surgir **nanopartículas de óxido de ferro** com aplicações clínicas para o tratamento da anemias e também como agentes de contraste para imagem por ressonância magnética (Anselmo & Mitragotri, 2016). Adicionalmente, partículas

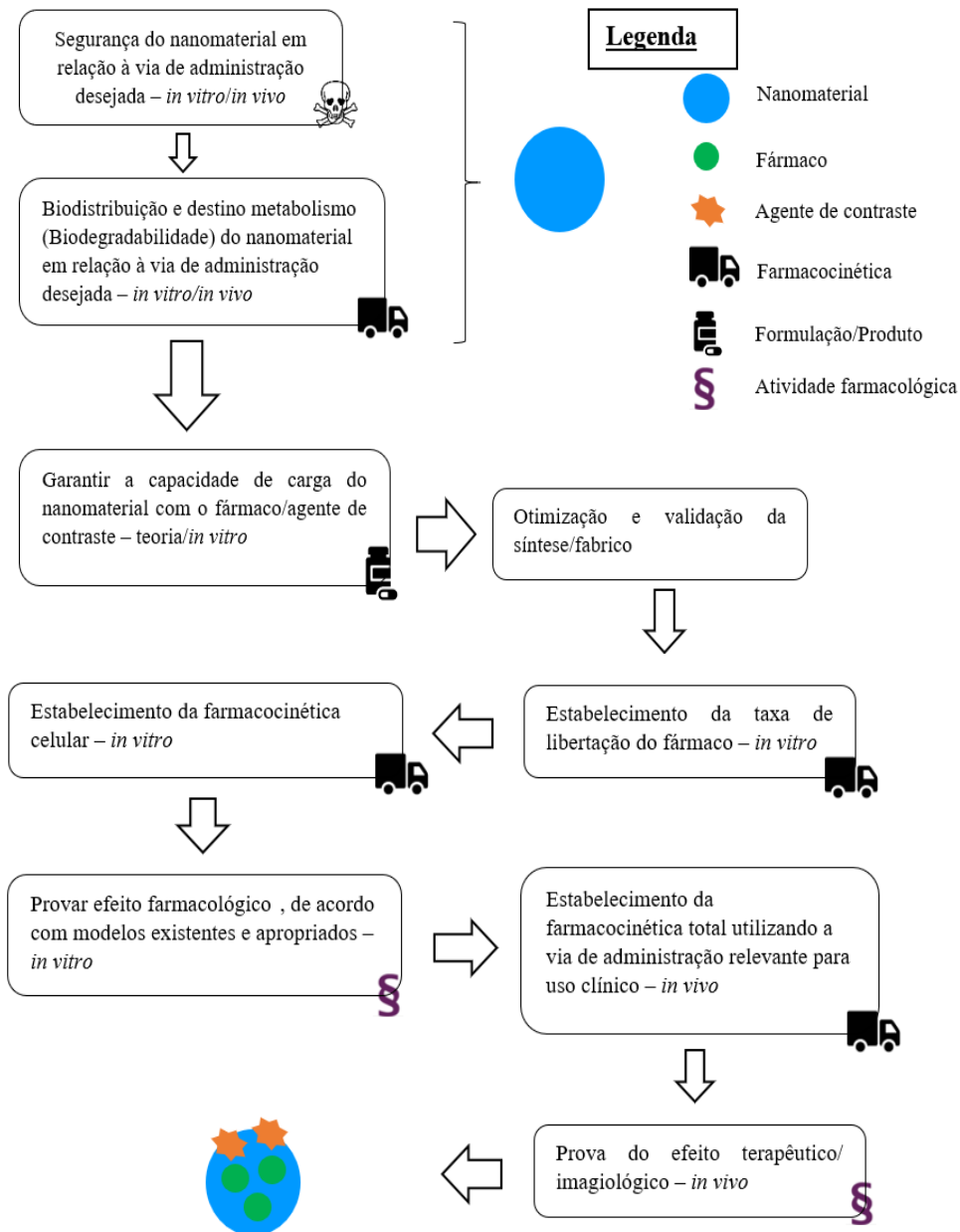
de **ouro** (artrite) e **prata** (agentes antimicrobianos) têm também demonstrado aplicabilidade e interesse clínico crescente ao longo dos anos (Duncan & Gaspar, 2011).



**Figura 4:** Cronograma da evolução da nanomedicina: Lipossomas, conjugados poliméricos e dendrímeros são alguns dos exemplos dos primeiros nanomedicamentos que surgiram. O DOXIL<sup>®</sup> foi o primeiro lipossoma utilizado no tratamento do cancro. Seguiram-se lipossomas não peguizados (Myocet<sup>®</sup>), conjugados nanopartícula-proteína (Abraxane<sup>®</sup>), micelas poliméricas PEG-PLA (Genexol-PM<sup>®</sup>), lipossomas de vincristina (Marqibo<sup>®</sup>), NP de óxido de ferro (NanoTherm<sup>®</sup>), conjugados anticorpo-fármaco (Kadcyla<sup>®</sup>). Existem também novas nanotecnologias em fases de ensaios clínicos tais como: NP poliméricas PEG-PLGA (BIND-014) e imunolipossomas anti-EGFR. Perspetivas futuras apontam para a utilização de NP em terapêutica fotodinâmica (Z. Li et al., 2017).

### 2.3. Desenvolvimento de nanossistemas: Princípios -chave

Durante uma fase inicial de pesquisa, cada novo nanomedicamento deve ser cuidadosamente otimizado, tendo em consideração o uso clínico proposto, a via de administração, dose e frequência de dosagem. Apesar da existência de inúmeros e diversos tipos de nanomedicamentos e da variabilidade dos métodos de produção, podemos considerar a existência de *checkpoints* empíricos comuns e gerais que se encontram resumidos na Figura 5.



### Candidato para desenvolvimento pré-clínico/clínico

**Figura 5:** Metodologia de design, otimização e seleção de um candidato para desenvolvimento pré-clínico (Adaptado de Duncan & Gaspar, 2011)

Para além da evidente necessidade de um nanomedicamento demonstrar atividade funcional (farmacológica), qualquer novo produto, para ser considerado um candidato clínico/ pré-clínico, deve igualmente demonstrar um parecer favorável nos parâmetros de farmacocinética, segurança e de especificação de produto (Duncan & Gaspar, 2011).

### **2.3.1. Capacidade de carga**

A capacidade de carga de uma determinada nanoplataforma é um dos parâmetros primordiais do design de um nanomedicamento e, essencialmente, reflete a proporção de massa de um fármaco no conjunto do nanomedicamento.

Um nanossistema de transporte de um fármaco tem que ter uma capacidade de carga suficientemente elevada para garantir a existência de efeito terapêutico. Para que se verifique a adequabilidade da incorporação do componente bioativo numa determinada nanoplataforma é necessário garantir a sua compatibilidade com a matriz, bem como conhecer detalhadamente as suas propriedades físico-químicas, estrutura, potência e mecanismo de ação (Duncan & Gaspar, 2011; Shen, Shihong, Wu, Youshen, Liu, Yongchun, Wu, 2017).

### **2.3.2. Farmacocinética**

Os nanomedicamentos são frequentemente concebidos de modo a melhorar a biodisponibilidade, a facilitar a libertação controlada ou promover a vetorização de um fármaco e, portanto, não é surpreendente que os nanomedicamentos mais efetivos tenham surgido a partir de um design cuidadoso, com uma farmacocinética bem estudada. Não importa o quão promissora pode ser a resposta farmacológica; se a terapêutica não atingir o devido alvo, nunca se poderá considerar eficaz. Daí que estabelecer precocemente o perfil farmacocinético desejado é fundamental para o sucesso de qualquer nanossistema (Duncan & Gaspar, 2011).

Consequentemente, é necessário que todos os nanoprodutos tenham a capacidade de ultrapassar barreiras biológicas que, não só protegem o organismo da entrada de agentes infecciosos, mas que também compartimentam as complexas vias biológicas e bioquímicas responsáveis pela manutenção da homeostase normal do corpo humano.

Dependendo da via de administração e de qual o alvo terapêutico, a farmacocinética deve ser cuidadosamente ponderada: ao nível de todos os órgãos do corpo, ao nível da biodistribuição num determinado tecido (por exemplo, o que seja alvo da patologia), a nível intracelular, considerando os processos de endocitose e exocitose e/ou a nível dos organelos celulares (Duncan & Gaspar, 2011; Moss & Siccardi, 2014).

A compreensão e otimização das taxas de absorção e incorporação celular juntamente com a localização da libertação do componente bioativo são, para grande parte dos nanomedicamentos, a chave que determina o resultado clínico (Duncan & Gaspar, 2011).

### 2.3.3. Destino Metabólico

Por vezes, a segurança dos componentes e/ou dos metabolitos resultantes dos processos, *in vivo*, de degradação e metabolismo não são tidos em consideração.

Apesar de informação sobre os limites de exposição permitidos para inúmeros componentes inorgânicos utilizados em NP (ouro, cádmio, prata, óxido de ferro) estar bem documentada, os potenciais riscos da utilização a longo prazo de novos polímeros na conceção/revestimento de nanopartículas não é conhecido (Van Broekhuizen, Van Veelen, Streekstra, Schulte, & Reijnders, 2012).

Adicionalmente, muitos destes polímeros e materiais utilizados não são biodegradáveis e apesar de se recorrer a frações de polímeros de massa molecular baixa para facilitar a excreção renal, existe um risco particular de acumulação nos lisossomas após administração crónica e/ou de doses elevadas. Mesmo quando excretado pelo rim, a reabsorção tubular pode ser um problema para certos polímeros/nanomateriais (Duncan & Gaspar, 2011).

De facto, o potencial de acumulação de materiais não biodegradáveis, ou pouco biodegradáveis, nos lisossomas, responsáveis por disfunções lisossomais, tem sido clinicamente relatado, bem como a possibilidade de certas proteínas PEGuiladas causarem vacuolização celular (por vezes transitória) e portanto, ilustra a necessidade de uma cuidadosa análise dos efeitos da utilização de alguns materiais não biodegradáveis (Stern, Adiseshaiah, & Crist, 2012; Baumann, Tuerck, Prabhu, Dickmann, & Sims, 2014; Schütz et al., 2016).

Deste modo, um nanomedicamento e os seus metabolitos devem ser preferencialmente biodegradáveis caso sejam propostos para administração prolongada e/ou para utilização em doses elevadas. Caso não sejam biodegradáveis, a excreção renal e/ou hepatobiliar deve ser confirmada numa fase inicial de desenvolvimento de um novo nanossistema.



#### 2.3.4. Segurança

A toxicidade de um novo nanossistema, de todos os seus componentes e dos produtos de degradação deve ser considerada nas primeiras fases de desenvolvimento, quando se seleciona a via de administração.

Fatores como toxicidade geral, biocompatibilidade, ativação do sistema complemento, imunotoxicologia, farmacocinética, toxicocinética e destino metabólico têm sido estudados aquando do aparecimento de um novo nanomaterial.

No entanto, por vezes, o aparecimento de materiais novos, complexos e inovadores, está associado a declarações de biocompatibilidade ou biodegradabilidade infundadas, sem os devidos testes rigorosos que o comprovem. Exemplo disto ocorre quando investigadores utilizam um curto espaço de tempo (por vezes de horas) para testes farmacológicos, *in vitro*, sem consideração da farmacocinética clínica associada a situações *in vivo*, onde a exposição ao nanomaterial pode ocorrer durante horas, dias ou mesmo meses (Duncan & Gaspar, 2011).

Não obstante, qualquer medicamento apresenta efeitos adversos e os nano não são exceção. Trata-se de uma questão de avaliar a situação risco-benefício e adequar as técnicas utilizadas para avaliar a segurança destes novos nanomateriais. Alguns dos exemplos são os testes de citotoxicidade *in vitro*, indicados para a avaliação da adequabilidade do material e a microscopia (microscopia eletrónica de transmissão (MET) e microscopia eletrónica de varrimento (MEV)) que permite avaliar pequenas variações celulares (Charurvedi & Dave, 2012; Wolfram et al., 2016).

Para cada nanomedicamento é essencial escolher um portfolio de testes que sejam adequados e otimizados: i) o intervalo de tempo durante o qual decorrem ensaios clínicos deve ter em consideração a farmacocinética do material (uma única leitura pode dar origem a falsos positivos ou negativos); ii) utilizar linhagens de células semelhantes às do ambiente ao qual o nanomaterial será exposto; iii) utilizar técnicas analíticas que garantam que o analito não interfere com os resultados (Duncan & Gaspar, 2011).

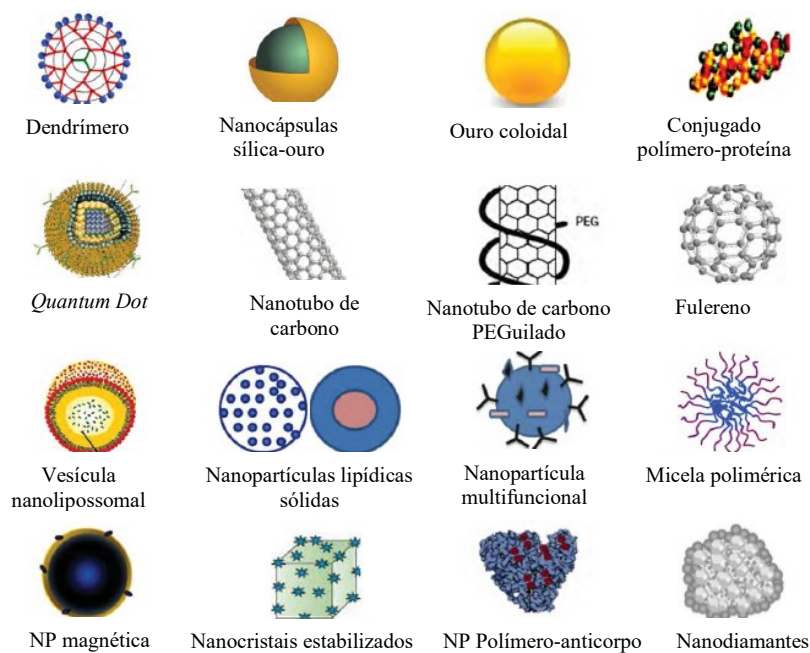
#### 2.3.5. Estabilidade/Taxa de libertação do fármaco

Uma estabilidade inadequada pode manifestar-se através de degradação prematura e/ou dissociação dos ligandos ou camadas de revestimento associadas a um

nanomaterial e pode suceder durante a formulação, armazenamento ou durante a própria administração (por exemplo, administração endovenosa, na passagem pelos tubos de perfusão). Fraca estabilidade pode falsamente promover segurança e/ou eficácia e pode também ter influência na libertação de fármaco. Daí que a estabilidade e a taxa de libertação sejam dois parâmetros que devem ser bem estudados e caracterizados antes de considerar um determinado nanomedicamento como possível candidato a desenvolvimento clínico (Duncan & Gaspar, 2011).

## 2.4. Tipos de nanoplateformas

O desenvolvimento de uma ampla gama de nanoplateformas com a capacidade de modificar o seu tamanho, composição e funcionalidade, forneceu recursos significativos para a nanomedicina. Estas plataformas são genericamente classificadas consoante os seus componentes e material encapsulante e algumas destas estruturas encontram-se representadas na Figura 6. Para a sua utilização na prática clínica existe a necessidade de identificar a aplicação específica destas nanoestruturas, as suas vantagens únicas e um perfil de segurança adequado. Adicionalmente, cada tecnologia deve também ser passível de reproduzir/produzir em larga escala e permitir a caracterização e validação de todos os seus componentes, mantendo um perfil custo-efetivo favorável.



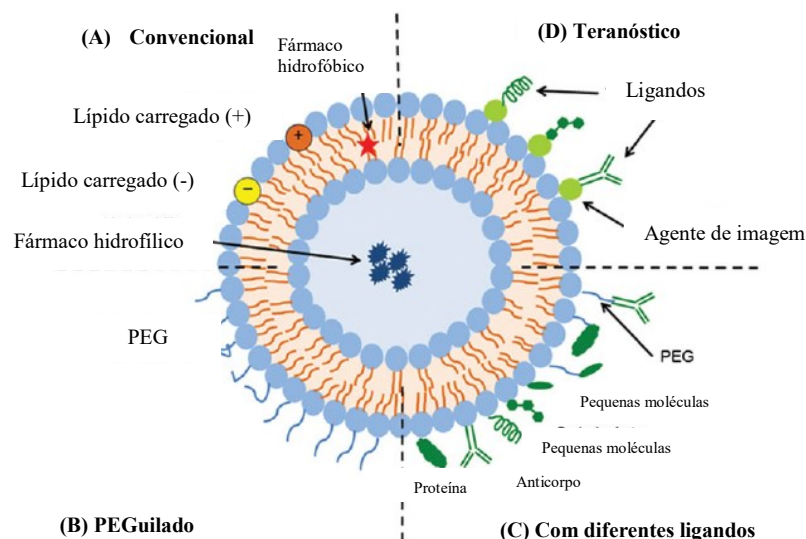
**Figura 6:**Diferentes tipos de nanoplateformas (Tinkle et al., 2014)

### 2.4.1. Nanopartículas lipídicas

Dentro das várias formulações nanolipídicas em constante desenvolvimento, exemplos clássicos como os lipossomas e as nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) continuam a ser reinventadas e a ter um foco especial em investigação.

#### Lipossomas

Um lipossoma é uma vesícula coloidal esférica constituída por bicamadas lipídicas concêntricas de fosfolípidos que rodeiam um compartimento aquoso, cujo diâmetro varia, geralmente, entre 90 e 150 nm. Trata-se de nanoplataformas que permitem o transporte de fármacos hidrofílicos no compartimento aquoso, hidrofóbicos na camada bilipídica, o transporte de biomoléculas (por exemplo, anticorpos) na sua superfície e podem inclusive ser utilizados para diagnóstico/teranóstico (i.e., conjugação do agente terapêutico e do agente de imagem). Podemos visualizar uma representação esquemática na Figura 7. (Bardania, Tarvirdipour, & Dorkoosh, 2017; Ventola, 2017).



**Figura 7:** Representação esquemática de diferentes tipos de sistemas de veiculação lipossomais. (A) Convencional; (B) PEGuilado; (C) Ligandos; (D) Teranóstico (Bardania et al., 2017)

Para além da sua biocompatibilidade, biodegradação, não imunogenicidade e atoxicidade, os lipossomas apresentam características que os tornam nanoplataformas

aliciantes: (i) aumentam a eficácia e índice terapêutico de alguns fármacos; (ii) aumentam a estabilidade do fármaco através da encapsulação; (iii) reduzem a toxicidade do fármaco; (iv) utilizando ligandos e diferentes cadeias de lípidos, os lipossomas podem também ser sensíveis a estímulos como o pH e a temperatura, permitindo uma libertação controlada do seu conteúdo quando sujeitos a determinadas condições ambientais específicas (Akbarzadeh, Rezaei-sadabady, Davaran, Joo, & Zarghami, 2013; Ventola, 2017).

No entanto, quando administrados via intravenosa, os lipossomas convencionais apresentam um tempo de semivida curto e são facilmente eliminados pelo sistema fagocítico mononuclear (SMF). Para o evitar, os lipossomas são frequentemente revestidos por polímeros, tais como o PEG, que permitem aumentar o tempo de circulação do lipossoma (Barreto et al., 2011).

### **Nanopartículas lipídicas sólidas (NLS)**

Apesar dos lipossomas terem sido as primeiras nanoplataformas lipídicas desenvolvidas, desvantagens como prazo de validade curto, baixa eficácia de encapsulação, eliminação rápida pelo SMF, custos elevados de produção e reações de oxidação e hidrólise por parte da camada fosfolipídica, levaram ao desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas (Akbarzadeh et al., 2013).

Trata-se de partículas com tamanho médio entre 40 e 1000 nm, morfologia esférica e compostas por uma matriz lipídica sólida à temperatura ambiente e corporal. Têm sido exploradas para utilização em diferentes vias de administração, como cutânea, oral, parentérica, ocular, pulmonar e retal. São essencialmente compostas por lípidos sólidos como triglicéridos altamente purificados, misturas complexas de glicéridos ou ceras, estabilizados por tensioativos. Apresentam boa estabilidade física, proteção dos fármacos incorporados de processos de degradação, libertação controlada e são biocompatíveis e biodegradáveis. Apesar das vantagens comparativamente a outros sistemas de transporte existentes, desvantagens tais como capacidade de carga limitada e perda de fármaco durante a fase de armazenamento são fatores que levaram ao desenvolvimento de outras nanoplataformas, que permitissem ultrapassar estas limitações das NLS convencionais (Wilczewska, Niemirowicz, Markiewicz, & Car, 2012; Weber, Zimmer, & Pardeike, 2014).

Deste modo, surgiram **transportadores lipídicos estruturados** (NLC - *Nanostructured lipid carriers*) e **conjugados lipídio fármaco** (LDC - *Lipid drug conjugate*). Os **NLC** são formulados utilizando combinações de lipídios sólidos e líquidos, que formam uma nanoestrutura com menor tendência a sofrer cristalização, o que permite aumentar a sua capacidade de carga e melhorar a estabilidade, reduzindo as perdas de fármaco. Os **LDC** foram desenvolvidos para expandir a aplicabilidade de nanopartículas lipídicas a fármacos hidrofílicos, visto que as NLS e NLC têm baixa capacidade de carga para fármacos desta natureza. O fármaco é conjugado com uma porção lipídica (ácido gordo, diglicérido, fosfoglicérido), tornando-o num conjugado lipídico insolúvel em água. (Adhikari et al., 2017; Wilczewska et al., 2012).

#### 2.4.2. Nanopartículas poliméricas

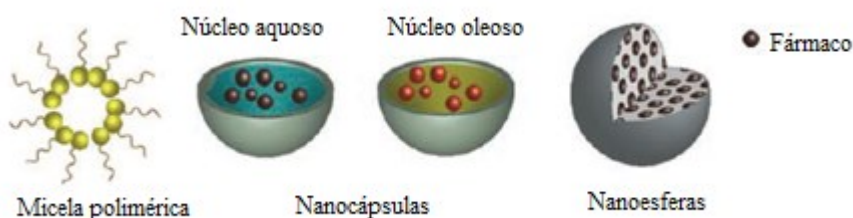
As NP poliméricas são uma das nanoplataformas mais amplamente utilizadas em investigação nanomédica e, conseqüentemente, existe inúmera informação relacionada com a sua eficácia e segurança. Utilizam polímeros biocompatíveis e biodegradáveis, com uma vasta variedade de formas; o seu tamanho pode variar entre 10 e 1000 nm, e o agente terapêutico pode ser adsorvido/conjugado na sua superfície ou incorporado/encapsulado na sua matriz polimérica (Ventola, 2017).

As vantagens destes nanossistemas incluem i) perfis de libertação de fármaco controlados e sustentados que permitem alterar a sua biodistribuição, subsequente eliminação e, conseqüentemente, aumentar a eficácia da terapêutica; ii) reduzida toxicidade e ocorrência de efeitos adversos; iii) potencial de modificação e funcionalização das suas superfícies com a conjugação de diferentes ligandos; iv) passível de ser utilizado em diferentes vias de administração incluindo oral, nasal, parentérica, intra-ocular, entre outras (Jawahar & Meyyanathan, 2012; Ventola, 2017).

Os polímeros podem classificar-se como naturais – quitosano, alginato, gelatina e ácido hialurónico – ou sintéticos – polietilenoglicol (PEG), ácido polilático (PLA) e poli (ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA) (Kumar, Dilbaghi, Saharan, & Bhanjana, 2012).

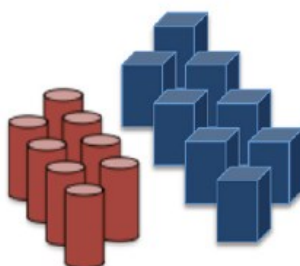
Dependendo do seu processo de preparação, os polímeros podem formar diferentes tipos de nanoformulações, entre eles, nanoesferas, nanocápsulas, conjugados polímero-fármaco e micelas poliméricas (Figura 8). As nanoesferas apresentam uma matriz polimérica, nas quais as substâncias ativas podem ser adsorvidas na sua

superfície, encapsuladas ou dissolvidas na própria matriz. As nanocápsulas são constituídas por uma cavidade polimérica e um núcleo onde, geralmente, as substâncias ativas são dissolvidas, mas também existe a possibilidade de serem adsorvidas na sua superfície (Parveen, Misra, & Sahoo, 2012).



**Figura 8:** Exemplos de Nanopartículas Poliméricas (Barreto et al., 2011)

No entanto, devido ao seu pequeno tamanho e grande área de superfície, há tendência para agregação de partículas durante o seu processo de formação (Jawahar & Meyyanathan, 2012), sendo necessário conceber novos métodos de fabrico com o potencial de criar novas nanopartículas com arquiteturas incomuns e que sejam mais favoráveis. Um exemplo é a tecnologia PRINT<sup>TM</sup> (*particle replication in nonwetting templates*), utilizada mais habitualmente na indústria eletrónica, permite preparar partículas nanométricas com qualquer forma e tamanho. Caso seja uma técnica custo-efetiva, poderá trazer novos paradigmas à produção na indústria farmacêutica, responsável por conceber novas e interessantes oportunidades para o controlo de parâmetros como a cinética dos fármacos e veiculação dos mesmos (Duncan & Gaspar, 2011). Exemplos de nanopartículas concebidas através desta técnica estão representados na Figura 9.

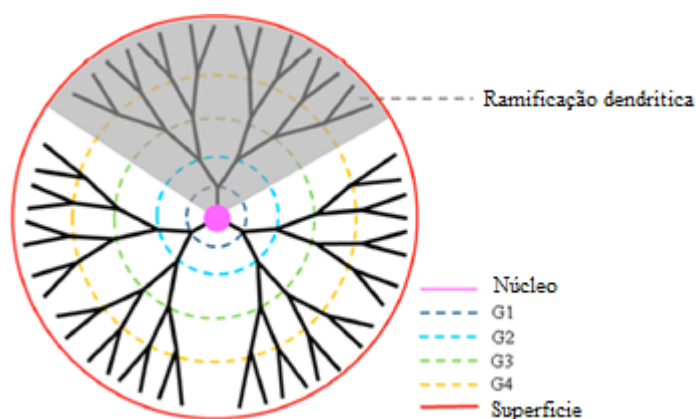


**Figura 9:** Exemplos de nanopartículas produzidas através da técnica PRINT<sup>TM</sup> (Adaptado de Duncan & Gaspar, 2011)

As micelas são nanopartículas poliméricas resultantes da agregação de blocos poliméricos anfipáticos, cuja reorientação forma um núcleo hidrofóbico estabilizado por uma face externa de cadeias poliméricas hidrofílicas (Parveen et al., 2012). Trata-se de uma nanoplataforma altamente promissora que permite a incorporação de grandes quantidades de fármaco no seu interior e aumenta a solubilidade de fármacos hidrofóbicos. Tem também outras vantagens como o tamanho pequeno (10-100 nm), elevada estabilidade estrutural e a possibilidade de incorporar diferentes agentes terapêuticos. No entanto, a dificuldade de síntese e o facto da tecnologia de incorporação de agentes terapêuticos nas micelas ainda não estar bem desenvolvida (existem vários métodos de incorporação de fármacos em micelas e, no entanto, nenhum destes pode ser considerado padrão), torna a reprodutibilidade à escala industrial num desafio (Yokoyama, 2011).

### **2.4.3. Dendrímeros**

Os dendrímeros são também nanoestruturas macromoleculares poliméricas compostas por múltiplas unidades funcionais ramificadas que emergem radialmente a partir de um núcleo central. Na estrutura de um dendrímero (Figura 10), em contraste com a de um polímero linear, podemos definir i) um núcleo central, passível de encapsular diferentes grupos químicos e que exhibe propriedades incomparáveis devido ao nanoambiente rodeado de ramificações dendríticas; ii) ramos que divergem radialmente a partir do núcleo central, compostos por unidades repetidas (gerações) e que fornecem espaço flexível capaz de encapsular pequenas moléculas; iii) uma camada exterior multivalente de funcionalidade terminal, que contém vários locais de ligação a fármacos e que interage com o ambiente externo, definido assim as propriedades macroscópicas do dendrímero (Noriega-Luna et al., 2014; Wu, Ficker, Christensen, Trohopoulos, & Moghimi, 2015).



**Figura 10:** Representação esquemática de um dendrímero. As ramificações dendríticas desde o núcleo até à periferia são definidas como o número de gerações (G1-G4). Pode ser alterado consoante a necessidade de aumentar a capacidade de carga da nanoplateforma (Wu et al., 2015)

Características como a biocompatibilidade, solubilidade em água, bem como a capacidade de controlo arquitetónico do dendrímero incluindo a forma, o tamanho, a carga, as propriedades e composição da camada exterior, e a estrutura molecular dos dendrímeros, tornam-nos candidatos ideais para a veiculação de fármacos. (Wu et al., 2015; Ventola, 2017).

Os dendrímeros têm sido testados para administração cutânea, intravenosa, oral, retal e vaginal, sendo que os polímeros mais comumente utilizados na sua matriz são as poliamidoaminas (PAMAMs) (Ventola, 2017).

Apesar do otimismo relativamente aos dendrímeros, a transferência para ensaios clínicos tem sido lenta devido à citotoxicidade de alguns polímeros utilizados na matriz e nas ramificações, cujos mecanismos e interações não são totalmente conhecidos. Para além disto, existe também a possibilidade de interação destas NP com componentes do sangue, que podem afetar a estrutura, funcionalidade e viabilidade das células sanguíneas, bem como alterar parâmetros farmacocinéticos e de biodistribuição dos dendrímeros (Wu et al., 2015)

#### 2.4.4. Nanopartículas proteicas

As proteínas são uma classe de moléculas naturais que possuem funcionalidades e potencialidades únicas no campo das ciências biomédicas. São consideradas bons



candidatos para a preparação de nanopartículas devido à sua anfifilia, que permite uma boa interação com o fármaco e também com solventes.

As nanopartículas derivadas de proteínas naturais são biodegradáveis, metabolizáveis, não antigénicas e facilmente passíveis de modificações de superfície para permitir a sua conjugação com ligandos e fármacos. São sintetizadas a partir de diversas proteínas tais como albumina sérica e bovina, gelatina, gliadina e zeína (Lohcharoenkal, Wang, Chen, & Rojanasakul, 2014).

Tal como outras nanoplataformas, as NP proteicas também apresentam desvantagens, incluindo, dificuldade em controlar o tamanho da partícula e de demonstrar a uniformidade dos lotes produzidos (Feng, Zhang, Sun, & Jiang, 2016).

#### **2.4.5. Nanopartículas magnéticas: SPIONS**

Um vasto número de materiais inorgânicos, em particular, nanopartículas magnéticas têm sido utilizadas para aplicações imagiológicas (Ressonância magnética - MRI) e intensamente investigadas como sistemas de veiculação e de libertação controlada de fármacos. Trata-se de uma classe com potencial devido às suas propriedades multifuncionais tais como, tamanho reduzido, uma área de superfície grande e funcionalizável, baixas taxas de sedimentação e possível manipulação com a aplicação de um campo magnético (Cardoso et al., 2018).

Os materiais com propriedades magnéticas são geralmente estruturas com um domínio multimagnético. Quando são reduzidos à nanoescala tornam-se numa estrutura com um único domínio magnético e tornam-se superparamagnéticas. Esta característica torna as partículas rapidamente magnetizáveis perante a presença de um campo magnético exterior; no entanto, quando este é retirado, as partículas não demonstram qualquer atividade magnetizante residual (Guo et al., 2018).

Dentro desta classe destacam-se as NP superparamagnéticas de óxido de ferro (SPIONS), pelo facto de apresentarem características favoráveis como a sua biodegradabilidade, capacidade de serem modificadas por diferentes substâncias, facilidade de preparação, estabilidade e baixo custo. Os SPIONS são tipicamente constituídos por um núcleo de partículas magnéticas (usualmente,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), revestidos por polímeros biocompatíveis, que lhes confere um diâmetro de 20-150 nm. A escolha de polímeros para revestimento é essencial de modo a prevenir a agregação, aumentar a estabilidade, evitar o SMF e proporcionar uma superfície adequada para a conjugação

de ligandos que tenham uma elevada afinidade com as células-alvo (Duncan & Gaspar, 2011; Mohammed, Gomaa, Ragab, & Zhu, 2016; Guo et al., 2018).

A nível terapêutico, a eficácia depende de outros parâmetros físicos, incluindo força, gradiente e volume do campo magnético. O gradiente magnético é criado por um magneto (Ferro, por exemplo) fixado fora do corpo, sobre o local a atingir. O complexo metálico com o fármaco é injetado na corrente sanguínea sob forma de um ferrofluido biocompatível e é retido no local desejado devido à força exercida pelo campo magnético exterior. Em seguida, o fármaco é libertado por vias enzimáticas ou por alterações das condições fisiológicas como pH, osmolidade ou temperatura e atinge as células-alvo (Mahmoudi, Sant, Wang, Laurent, & Sen, 2011).

Apesar do óxido de ferro ser relativamente menos tóxico quando comparado com outros nanomateriais semicondutores, permanecem preocupações relativamente à toxicidade dos seus metabolitos. Deste modo, estudos sistemáticos, *in vivo*, devem ser efetuados para esclarecer os aspetos toxicológicos dos SPIONS, bem como a determinação da sua estabilidade a longo prazo, antes que possam ser amplamente utilizados na prática clínica (Cardoso et al., 2018).

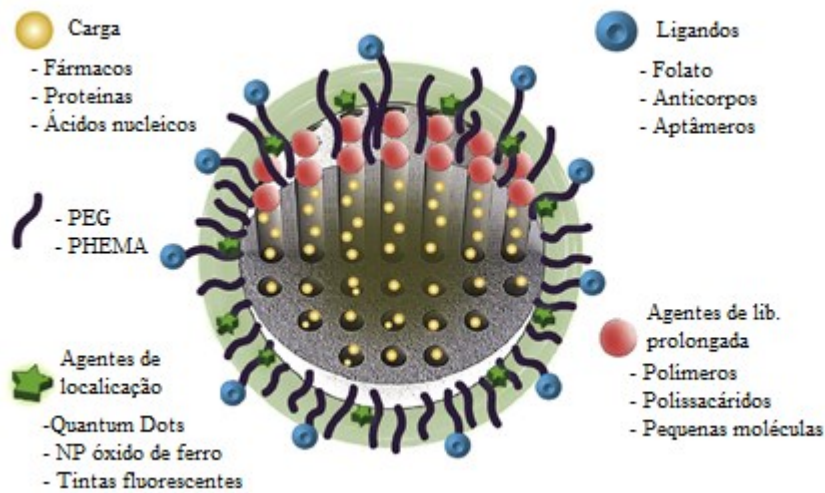
#### **2.4.6. Nanopartículas cerâmicas**

Atualmente, o desenvolvimento de novos nanomateriais cerâmicos para aplicações biomédicas cresce rapidamente, particularmente, a aplicação destas no controlo da libertação controlada de fármacos. As NP cerâmicas baseiam-se em materiais como a hidroxiapatite (HA), zircónio ( $ZnO_2$ ), sílica ( $SiO_2$ ), óxido de titânio ( $TiO_2$ ) e alumina ( $Al_2O_3$ ), cujas propriedades físico-químicas foram modificadas e melhoradas de modo a reduzir a toxicidade nos sistemas biológicos (Moreno-Vega, Gómez-Quintero, Nuñez-Anita, Acosta-Torres, & Castaño, 2012).

Apresentam vantagens como uma elevada força mecânica, elevada resistência a alterações ambientais (incluindo pH e temperatura), elevada estabilidade, elevada capacidade de carga e são passíveis de incorporar fármacos hidrofílicos e hidrofóbicos.

Nanopartículas baseadas em materiais de sílica têm sido exploradas para diversas aplicações em nanomedicina, nomeadamente em imunoensaios, como sistemas de suporte de enzimas e anticorpos e também têm sido conjugadas com partículas de ouro, *Quantum Dots* e fulerenos. O interesse advém do facto da sílica mesoporosa poder ser produzida com diferentes formas e tamanhos, apresentar uma grande área superficial

e possuir poros ajustáveis (2-20 nm de poros cúbicos ou de canais hexagonais), o que permite a encapsulação de diversos fármacos (Figura 11) (Duncan & Gaspar, 2011).



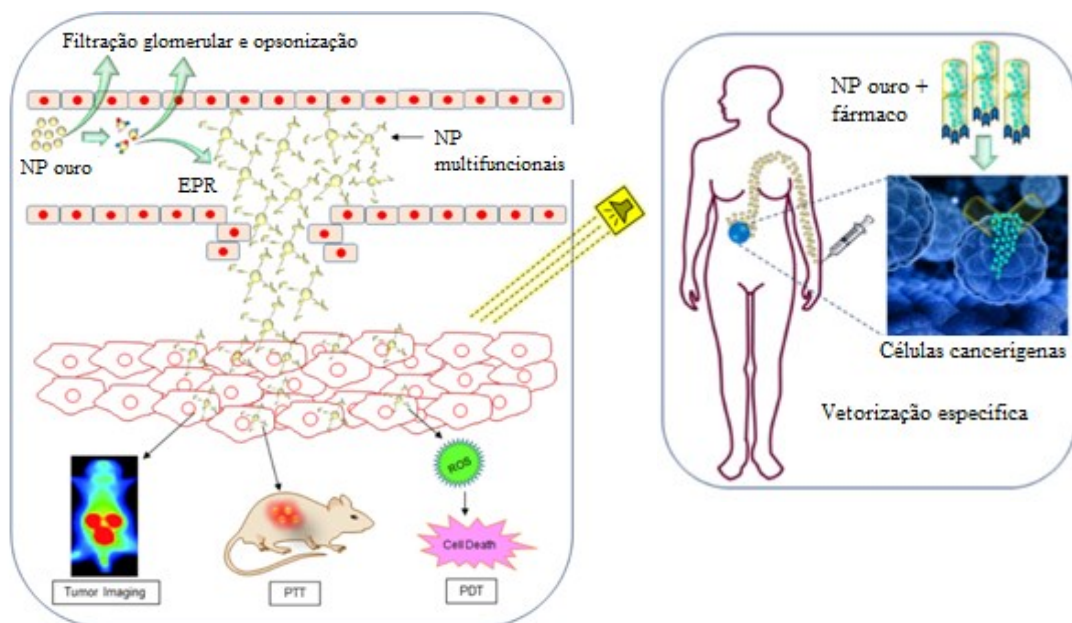
**Figura 11:** Multifuncionalidade das nanopartículas de sílica mesoporosa. Diferentes biomoléculas terapêuticas podem ser carregadas nos poros e a sua liberação pode ser controlada através de agentes que respondam a determinados estímulos (pH, por exemplo). A sua superfície pode também ser modificada com diferentes ligandos para aumentar a especificidade para um determinado local e para evitar o SMF (Adaptado de Moreira, Dias, & Correia, 2016).

Tal como outras nanoplataformas, as NP cerâmicas também apresentam as suas desvantagens. A sua baixa biodegradabilidade pode levar a uma acumulação indesejada e, consequentemente, a elevada toxicidade. Antes que estes nanossistemas sejam considerados para produção em larga escala e aplicação clínica é necessário determinar a sua eficácia, biodistribuição e segurança, *in vivo*, bem como caracterizar a sua biocompatibilidade, biodegradação e excreção, a longo prazo (Moreira et al., 2016).

#### 2.4.7. Nanopartículas metálicas

No campo de partículas inorgânicas, as NP metálicas têm demonstrado a sua relevância, nomeadamente com as suas aplicações em áreas biomédicas, como vetores na veiculação de fármacos, agentes imagiológicos ou antimicrobianos. Dentro desta classe destacam-se as nanopartículas de ouro.

As partículas de ouro são de fácil síntese e as suas propriedades e superfície são facilmente modificáveis. Isto permite obter NP com o tamanho e forma desejada e conjugação com diversas biomoléculas como fármacos, ligandos e genes (Singh et al., 2018).



**Figura 12:** Diferentes abordagens de partículas de ouro no diagnóstico e tratamento do câncer. Na terapia fototérmica (PTT), a luz é convertida em calor e promove a morte celular das células cancerígenas. Na fotodinâmica (PDT), um agente fotossensibilizante é injetado nos tecidos, cuja energia forma espécies reativas de oxigênio (ROS) que provocam a apoptose celular (Singh et al., 2018).

Estas NP são uma opção atrativa para explorar como ferramenta para biossensores, imunoenaios, veiculação de fármacos, imagiologia e terapia fototérmica e fotodinâmica, devido essencialmente às suas propriedades óticas (Figura 12). Neste caso, os elétrons presentes nas partículas de ouro originam uma resposta a um estímulo de radiação, fazendo com que estas absorvam e dispersem luz.

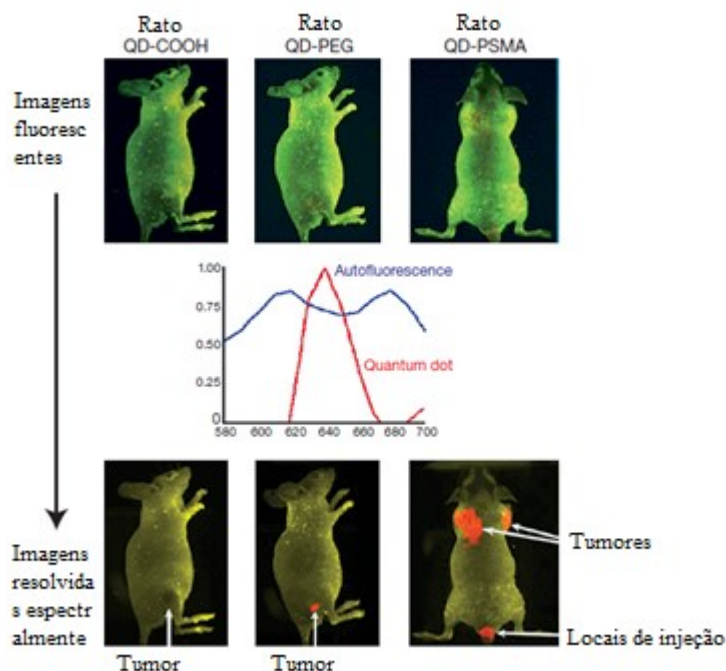
É importante ter em conta que as partículas são relativamente biocompatíveis; no entanto, a sua citotoxicidade, que é dependente da forma, tamanho e propriedades de superfície, necessita de uma avaliação mais detalhada (Singh et al., 2018).

#### 2.4.8. *Quantum Dots*

Os Quantum Dots (QD) são nanocristais semi-condutores (1-100nm), que exibem propriedades óticas e elétricas favoráveis, incluindo elevada fotoluminescência e fotoestabilidade e possuem aplicabilidade em áreas de imagiologia e teranóstico (Duncan & Gaspar, 2011; Pisanic II, Zhang, & Wang, 2015).

A sua composição pode ser seleneto de cádmio (CdSe) revestido com uma camada de sulfeto de zinco (ZnS) ou sulfeto de cádmio de modo a melhorar o rendimento quântico de fluorescência e proteger contra a foto-oxidação (minimiza a citotoxicidade e melhora a fotoestabilidade) (Klostranec & Chan, 2006). Uma variedade de revestimentos adicionais (por exemplo, PEG) têm sido utilizados para minimizar a agregação, melhorar a biodistribuição/eliminação e para possibilitar a conjugação de outros ligandos (Duncan & Gaspar, 2011).

As propriedades dos QD incluem a sua capacidade de ajuste da cor da fluorescência emitida através da variação do seu tamanho, forma, composição, solvente e estabilidade contra a fotodegradação, o que permite a deteção simultânea de diferentes cores de QD utilizando uma única fonte de luz. Esta deteção de diferentes cores pode ser útil na marcação de células/tecidos específicos, principalmente na deteção de células tumorais. Devido à falta de bioluminescência, os tumores podem ser difíceis de localizar e remover, especialmente no caso de tumores mais pequenos. Por isso, para uma vetorização mais específica, podem ser utilizados QD associados a outras nanoplateformas (por exemplo, polímeros), não só para direcionar a terapêutica a um local específico, mas também para obter uma melhor visualização *in vivo* do local onde o fármaco irá atuar (Ajitha, Akhina, Mathew, & Thomas, 2018)

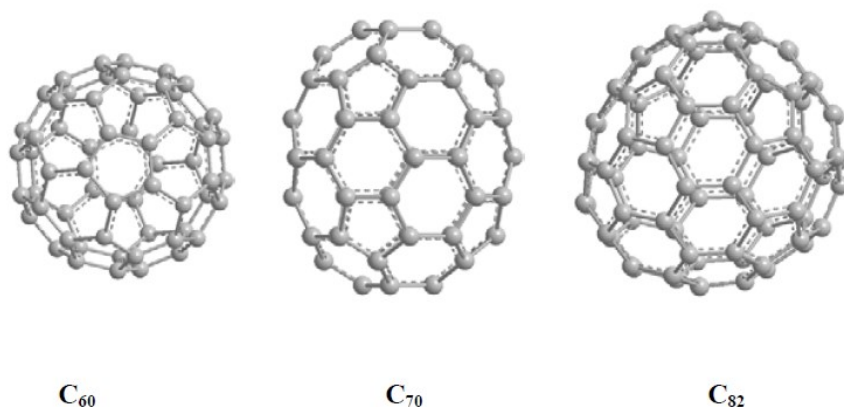


**Figura 13:** Imagens de fluorescência *in vivo* de ratinhos com tumores (linhagem de células C4-2 com tumores de próstata humano com PSMA positivo), utilizando QD com três modificações de superfície diferentes: grupos de ácido carboxílico (esquerda), PEG (meio) e conjugados PEG-PSMA Ab (direita). Para cada modificação de superfície, uma imagem colorida (superior), dois espectros de fluorescência de QD e pele de animal (meio) e uma imagem resolvida espectralmente (inferior). Não foram detetados sinais tumorais com os grupos carboxílicos, foram detetados sinais fracos com PEG e sinais intensos foram detetados na vetorização ativa PEG-PSMA Ab (Gao, Cui, Levenson, Chung, & Nie, 2004).

De notar que existem questões de segurança que podem levantar alguns problemas, incluindo a toxicidade dos metais pesados utilizados. No entanto, o seu sucesso baseia-se na identificação da janela na qual a dose seja alta o suficiente para emitir sinais passíveis de deteção, sem demonstrar efeitos de toxicidade (Duncan & Gaspar, 2011). Para além disto é necessário estudar fatores como o tamanho, carga, revestimento, funcionalização e maneira como estes influenciam a biodistribuição e a toxicidade e qual o impacto da utilização de QD a longo prazo (Maysinger, Lovrić, Eisenberg, & Savić, 2007).

#### 2.4.9. Fullerenos e Nanotubos de Carbono

Os **fullerenos** são moléculas de carbono alotrópicas que apresentam uma estrutura tridimensional, composta por 60 ou mais átomos de carbono (Figura 14).

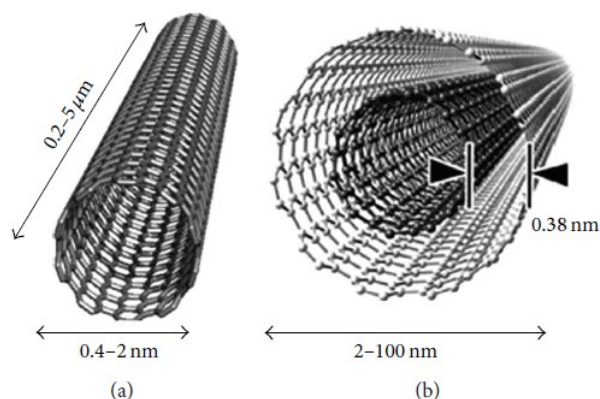


**Figura 14:** Exemplos de estruturas de fulerenos de diferentes tamanhos e morfologias ( $C_{60}$ ,  $C_{70}$  e  $C_{82}$ ), consoante o número de carbonos (Adaptado de Anilkumar et al., 2011)

Apresentam propriedades físicas e químicas de interesse para aplicação em áreas de bioquímica e medicina, tais como, (i) a capacidade de atuarem como semicondutores sobre determinadas condições, (ii) a formação de compostos com outras moléculas e retenção de determinadas substâncias dentro da estrutura e (iii) capacidade antioxidante, incluindo a de absorver ou neutralizar radicais livres (Yadav & Kumar, 2008). Têm sido propostos como agentes bioativos como, por exemplo, inibidores das proteases do vírus da imunodeficiência humana (VIH), supressores de espécies reativas de oxigénio para o tratamento de diversas doenças neurológicas (doença de Parkinson e doença de Alzheimer), sistemas de veiculação de fármacos, agentes imagiológicos e como radioprotetores (Partha & Conyers, 2009; Chawla, Chawla, Maheshwari, A. Saraf, & K. Saraf, 2010).

Debates em relação à toxicidade destas substâncias têm surgido, agravados pelo facto de existir uma variedade de estruturas, em termos do número de carbonos e pelas diferentes modificações de superfície. Deste modo, torna-se problemático fazer generalizações acerca da sua toxicidade e risco, sendo também difícil conceber uma estratégia de controlo que possa ser aplicável a todos os tipos de fulerenos (Aschberger et al., 2010).

Os **nanotubos de carbono** são produtos dos fulerenos e consistem em átomos de carbono dispostos numa série de anéis de benzeno condensados numa estrutura tubular. De acordo com o número de camadas podem ser classificados como nanotubos de parede única (*Single Walled Carbon Nanotubes* – SWCNT), cujo tamanho varia entre 0,4 e 2 nm, ou de parede múltipla (*Multiwalled Carbon Nanotubes* – MWCNT), que podem variar entre 2 e 100 nm. (Figura 15) (He et al., 2013).



**Figura 15:** Diagrama representando SWCNT (a) e MWCNT (b) (He et al., 2013)

As suas propriedades eletroquímicas, geométricas, térmicas e espectrofotométricas têm resultado na aplicação destas nanoplateformas na veiculação de fármacos, na imagiologia, teranóstico, veiculação de biomoléculas, terapia genética, imunoterapia, entre outros (He et al., 2013).

Tal como nos fulerenos, a sua toxicidade pode representar um problema na aplicabilidade destes sistemas, com estudos *in vitro* e em animais a demonstrar resultados controversos. Uma otimização dos parâmetros físico-químicos para minimizar a sua toxicidade seria favorável antes que estes possam ser efetivamente utilizados na prática clínica (Duncan & Gaspar, 2011; He et al., 2013).



### **3. NANOMEDICINA NA DOENÇA ONCOLÓGICA**

Apesar de inúmeros e impressionantes avanços que têm sido realizados a nível da compreensão dos seus mecanismos moleculares, o cancro permanece uma das doenças mais complexas que afeta o ser humano. Hoje em dia, o cancro é reconhecido como uma doença heterogénea, com mais de 100 tipos distintos reconhecidos e com vários subtipos de tumores associados a determinados órgãos. A variabilidade genética e fenotípica determina o crescimento, o grau de invasão, o potencial metastático e a consequente resposta ou resistência ao tratamento, fazendo com que esta complexidade patológica acabe por explicar a diversidade de possibilidades clínicas aplicadas a neoplasias histologicamente semelhantes (Hook et al., 2010).

Conforme mencionado anteriormente, a terapêutica atual está limitada a cirurgia, radiação e quimioterapia, sendo que a escolha mais apropriada vai depender do tipo e da fase de desenvolvimento do tumor. No entanto, a prática permanece longe do ideal e sofre diversos inconvenientes incluindo: i) efetividade limitada devido à distribuição inespecífica de agentes tumorais, que acaba também por afetar células saudáveis, contribuindo para a ocorrência de efeitos adversos; ii) citotoxicidade intolerável, resultante do facto de que grande parte dos fármacos quimioterapêuticos são pouco solúveis ou hidrofóbicos e necessitam de solventes na sua formulação que contribuem para a elevada toxicidade; iii) a capacidade limitada de monitorizar a resposta terapêutica; iv) possibilidade de reincidência devido à natureza da patologia e de desenvolvimento de resistência à terapêutica (Hook et al., 2010; Moorthi, Manavalan, & Kathiresan, 2011; Sebastian, 2017).

A heterogeneidade clínica exige diferentes formas de abordagem. Por exemplo, no caso do cancro do ovário ou pâncreas, que têm taxas de sobrevivência baixas e aos quais está associada uma fase avançada da doença no momento do diagnóstico, seria importante desenvolver terapêuticas mais eficazes, com menos efeitos adversos e, também, métodos que permitam a deteção precoce destes tipos de cancro (Hook et al., 2010).

Na tentativa de superar as desvantagens da terapêutica convencional surge a nanomedicina com a promessa de desenvolver inovadores e eficazes sistemas de veiculação de fármacos, baseados em técnicas já aplicadas na nanotecnologia. Este tem

sido um tópico extensamente discutido, debatido e investigado, cujo sucesso clínico está dependente de inúmeros fatores, discutidos em seguida.

### **3.1. Características fisiológicas e patológicas que condicionam a terapêutica**

Aquando do desenvolvimento de um nanomedicamento é necessário ter em consideração que as células cancerígenas apresentam características distintas das células normais e é imprescindível que o processo, para que os fármacos atinjam o local desejado nas condições desejadas, seja cuidadosamente estudado.

O transporte de um fármaco da circulação sistêmica para as células cancerígenas implica vários passos. Primeiramente, as nanopartículas divergem para diferentes regiões do tumor através de vasos sanguíneos. De seguida, têm que ultrapassar a parede dos vasos e o espaço intersticial, de modo a alcançarem as células-alvo. A desorganização da estrutura vascular do tumor origina vasos tortuosos e um fluxo sanguíneo heterogêneo. Adicionalmente, a falta de funcionalidade dos vasos linfáticos e a hiperpermeabilidade vascular dos tumores resulta num aumento da pressão do fluido intersticial, que reduz o transporte, enquanto que a característica densa matriz extracelular dificulta a difusão passiva (Jain & Stylianopoulos, 2010).

#### **3.1.1. Vascularização sanguínea anormal e hipertensão intersticial**

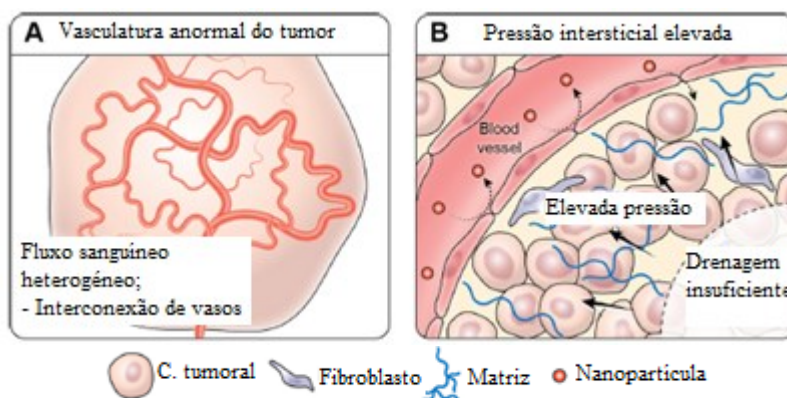
A morfologia vascular (comprimento e número de vasos, diâmetro e disposição geométrica) e o fluxo sanguíneo afetam a movimentação de fármacos e outros compostos através da vasculatura sanguínea (Jain & Stylianopoulos, 2010).

A rede vascular do tumor é caracterizada por uma arquitetura altamente irregular, com vasos dilatados e tortuosos, determinada por padrões aleatórios de ramificação e interconexão. Contrariamente à microvasculatura do tecido normal, que possui uma ramificação regular e espacialmente organizada, a microvasculatura do tumor é desorganizada e não se rege pela hierarquia convencional dos vasos sanguíneos (Fukumura, Duda, Munn, & Jain, 2011; Nakamura, Mochida, Choyke, & Kobayashi, 2016). As arteríolas, capilares e vénulas não são identificados como tal, apresentando

em vez disso, vasos sanguíneos com um diâmetro superior ao esperado e uma estrutura de parede anormal, cujas membranas podem ser excepcionalmente finas ou grossas. Adicionalmente, a sua estrutura irregular torna as paredes dos vasos porosas e permeáveis em determinadas zonas. Também é importante notar que a proliferação das células tumorais exerce *stress* (compressão) nos vasos sanguíneos, o que pode levar ao colapso dos mesmos (Jain & Stylianopoulos, 2010; Nakamura et al., 2016).

Uma consequência fisiológica destas anormalidades vasculares é a heterogeneidade do fluxo sanguíneo (Jain, 1988), resultando numa fraca e heterogênea perfusão no próprio tumor. A presença de fracas zonas de perfusão torna o microambiente do tumor hostil (pressão parcial de oxigénio baixa, pH baixo e tecido necrótico) que alimenta a progressão do mesmo e contribui para o aumento da resistência aos fármacos (Jain & Stylianopoulos, 2010).

Para além do sistema sanguíneo, o sistema linfático também é afetado. O normal funcionamento da rede linfática drena o excesso de líquido, de modo a manter um balanço adequado de fluído intersticial. Em tecidos tumorais, as células cancerígenas exercem compressão sobre os vasos linfáticos, levando ao seu colapso e, portanto, apenas se encontram vasos linfáticos funcionais nas periferias do tumor (Leu, Berk, Lymboussaki, Alitalo, & Jain, 2000; Padera et al., 2004). Consequentemente, verifica-se uma drenagem insuficiente de fluido combinada com o extravasamento de fluidos das paredes dos vasos periféricos o que contribui para a hipertensão intersticial que, por sua vez, cria condições intratumorais acídicas e hipóxicas. Este microambiente reduz a eficácia da veiculação de fármacos ao tumor, contribuindo para a progressão do mesmo, aparecimento de metástases e resistência à terapêutica (Nakamura et al., 2016).



**Figura 16:** Barreiras que interferem com a veiculação de fármacos a células tumorais (Nakamura et al., 2016)

A combinação da hipertensão intersticial com o insuficiente fluxo sanguíneo contribui para a formação de um microambiente irregular que impede uma veiculação uniforme e eficaz de agentes terapêuticos nos tumores (Figura 16).

### 3.1.2. *Stress* induzido pelo crescimento tumoral e matriz extracelular

O crescimento tumoral está associado à produção de forças mecânicas intratumorais devido à rápida e descontrolada proliferação celular numa área limitada. Em determinados tipos de tumor, com um estroma menos consistente, a produção dessas forças mecânicas induz compressão (*stress*) e aumenta a densidade das células tumorais, dificultando a distribuição das nanopartículas pelo tumor. Torna-se um obstáculo à veiculação de fármacos e, conseqüentemente, contribui para a progressão do tumor (Khawar, Kim, & Kuh, 2015; Nakamura et al., 2016).

Em tecidos normais, a composição e estrutura da matriz extracelular é única, dinâmica e regula o crescimento celular, sendo que os seus componentes estruturais, enzimas e fatores de crescimento são cruciais para a regulação da proliferação e diferenciação celular.

Em contraste, o estroma tumoral inclui uma matriz extracelular modificada ligada a células do estroma multifacetadas incluindo fibroblastos, pericitos e células endoteliais. A fibrose é uma característica associada a diversos tipos de cancro e desenvolve-se devido a uma produção excessiva ou ao turnover limitado da matriz extracelular. Para além disto, as alterações biológicas e biofísicas da matriz extracelular tumoral num microambiente hipóxico contribuem para a progressão do tumor e aparecimento de metástases (Khawar et al., 2015; Nakamura et al., 2016).

No entanto, têm surgido estratégias com a potencialidade de alterar o microambiente do tumor, incluindo a normalização vascular, recorrendo a terapias anti-angiogénicas que diminuem o tamanho dos poros e reduzem a pressão intersticial, bem como, a normalização do estroma, de modo a aliviar o *stress* celular recorrendo, por exemplo, a enzimas que degradem a matriz extracelular (Khawar et al., 2015). De certa forma, podem ser consideradas como estratégias de preparação do tumor para a receção da nanoterapia, ultrapassando o problema da veiculação insuficiente de fármaco nos locais desejados.

### 3.1.3 Clearance através do Sistema Mononuclear Fagocitário (SMF)

A acumulação de NP nos tecidos tumorais requer que estas permaneçam tempo prolongado na circulação sanguínea e para que isso se verifique, é necessário evitar a sua eliminação precoce pelo SMF.

O SMF é um sistema orgânico constituído por vários tipos de células fagocitárias, situadas em diferentes pontos do organismo, que possuem funções generalizadas de defesa do organismo e que vão captar as nanopartículas antes que estas atinjam o local pretendido. O processo de captação inicia-se com a opsonização, envolvendo a adsorção de proteínas plasmáticas na superfície das NP que, posteriormente, se ligam a recetores específicos na superfície dos fagócitos, são internalizadas e destruídas (Blanco, Shen, & Ferrari, 2015).

Surgiram assim, estratégias com o objetivo de limitar a depuração pelo SMF através do revestimento das superfícies das NP com determinadas moléculas como, por exemplo, o PEG, nas quais unidades de etilenoglicol formam ligações com moléculas de água, resultando na formação de uma camada hidratada. Por sua vez, esta camada hidratada vai permitir estabilização estérica e impede ou dificulta a adsorção das proteínas na superfície das NP, minimizando as interações com células do sistema imunitário e a *clearance* pelo SMF (Blanco et al., 2015). Um exemplo do potencial de transformação utilizando o processo de revestimento das NP foi a PEGuilação de doxorubicina lipossomal, que aumentou o tempo de circulação do fármaco de minutos para horas (Hamilton et al., 2002).

## 3.2. Vetorização de fármacos

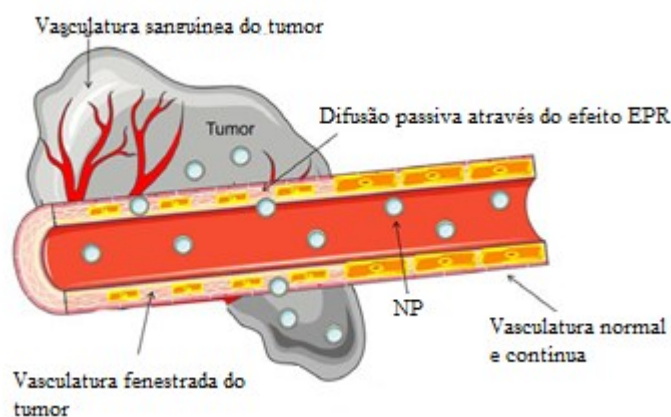
Um potencial e fundamental avanço da nanotecnologia no tratamento do cancro é a vetorização de fármacos. A capacidade de diferenciar células cancerígenas e não cancerígenas e, seletivamente, erradicar as malignas é uma missão central em todo o processo que, por vezes, não é fácil.

Dois processos fundamentais estão envolvidos: vetorização passiva e ativa, que podem ser utilizados independentemente, ou ambas as abordagens podem ser conciliadas.

### 3.2.1. Vetorização passiva

Tal como previamente mencionado, a vasculatura de um tumor é irregular comparativamente à estrutura hierárquica de tecidos normais.

O epitélio poroso em combinação com a fraca capacidade de drenagem do sistema linfático tem as suas desvantagens, no entanto, permitem também que as nanopartículas usem essas mesmas características para uma distribuição de fármaco mais localizada. Este fenómeno, descrito por Matsumana e Maeda em 1980, deu origem ao conceito de *Enhanced Permeability and Retention Effect* (EPR) (Figura 17) (Wakaskar, 2017).



**Figura 17:** Efeito EPR: A vasculatura da proximidade do tumor é irregular, permitindo que os nanotransportadores penetrem no tumor por difusão passiva. Há acumulação preferencial junto ao tumor e, desta forma, evita-se distribuição inespecífica do fármaco em tecidos saudáveis (Y. Lee & Thompson, 2018).

Diversos fatores importantes, como o tempo de circulação, a vetorização e a capacidade de superar barreiras fisiológicas, dependem muito da forma, tamanho e das características da superfície das NP.

Visto tratar-se de uma estratégia que assenta num transporte mediado por difusão, um tamanho apropriado é essencial. Convencionalmente, uma nanopartícula deve ter, pelo menos, 10 nm para evitar a filtração renal e também é necessário ter em conta que moléculas com um diâmetro maior conseguem acumular no interstício do tumor, no entanto, esta será mais localizada na superfície do mesmo. Geralmente, um tamanho ideal será entre 40 e 200 nm que permite maior tempo de circulação, maior acumulação dentro do tumor e menos filtração renal (Wakaskar, 2017).

A forma das nanopartículas também afeta a resposta biológica. Por exemplo, estudos indicam que a forma tem efeito na *clearance* pelo SMF, mais precisamente, formas mais achatadas ou discoides têm menos tendência para serem captadas pelos macrófagos, comparativamente a partículas esféricas. Consequentemente, este fator prolonga o tempo de circulação na corrente sanguínea e aumenta as possibilidades das nanopartículas alcançarem o alvo desejado. Para além disto, também se tem demonstrado que a forma pode ter efeito na deposição tumoral e eficácia terapêutica, em particular, a utilização de formas achatadas, discoides, elipsoides, entre outras, apresentam uma tendência de maior eficácia terapêutica (Toy, Peiris, Ghaghada, & Karathanasis, 2014; Wakaskar, 2017). Por exemplo, a utilização de nanobastões de trastuzumab exibiu uma inibição do crescimento celular de células de cancro da mama cinco vezes maior, em comparação com nanoesferas equivalentes, na mesma dose terapêutica (Barua et al., 2013).

As características da superfície também desempenham um papel importante da internalização das nanopartículas nas células. A sua superfície pode ser modificada pela composição polimérica, garantindo assim a hidrofobia ou hidrofília necessárias, consoante as características desejadas para uma melhora internalização. Sabe-se também que a modificação da superfície utilizando PEG protege dos nanossistemas da opsonização e subsequente remoção pelo SMF (Wakaskar, 2017).

Apesar do claro potencial do efeito EPR na vetorização de fármacos, os resultados são modestos, têm limitações e dependem de inúmeras variáveis inerentes às próprias características dos tumores. De facto, a heterogeneidade do efeito EPR causa limitações significativas ao uso desta estratégia, não apenas entre diferentes tumores, mas também num só, visto que pode apresentar diferenças ao longo do epitélio dos vasos (por exemplo, tamanho dos poros) e, consequentemente, uma vetorização distinta ao longo de todo o tumor (Piktel et al., 2016). Mesmo que garantam uma prolongada circulação na corrente sanguínea, o fármaco também pode extravasar em tecidos normais a uma taxa mais lenta (Nakamura et al., 2016) e os fatores mencionados na secção 3.1 causam algumas restrições a esta estratégia. Deste modo, esforços adicionais necessitam de ser realizados para complementar a vetorização passiva.

### 3.2.2. Vetorização ativa

O desafio mais importante na vetorização ativa é definir o ligando de superfície mais adequado para transportar seletivamente e com sucesso os sistemas de nanopartículas para os tecidos cancerígenos, evitando qualquer tipo de toxicidade no processo. A base desta estratégia assenta na forte afinidade dos ligandos à superfície do tumor, de modo a desencadear a endocitose por parte do recetor e, consequentemente, distribuir os agentes terapêuticos nas regiões alvo (Wakaskar, 2017).

Em princípio, qualquer ligando que exiba ligação preferencial a células cancerígenas ou que resulte na ativação seletiva perto da região tumoral, pode ser utilizado para vetorização ativa. Uma adaptação da superfície das NP com um ou múltiplos ligandos pode facilitar a ligação a um biomarcador sobreexpresso em células alvo e alguns exemplos específicos incluem anticorpos, fragmentos de anticorpos, proteínas, péptidos, pequenas moléculas e aptâmeros (Figura 18) (Wakaskar, 2018). Relativamente aos recetores dos tumores sobreexpressos, exemplos como, o recetor de fator de crescimento epidérmico (EGFR), recetores de transferrina, somatostatina e recetores de folato são bastante utilizados (Duncan & Gaspar, 2011).

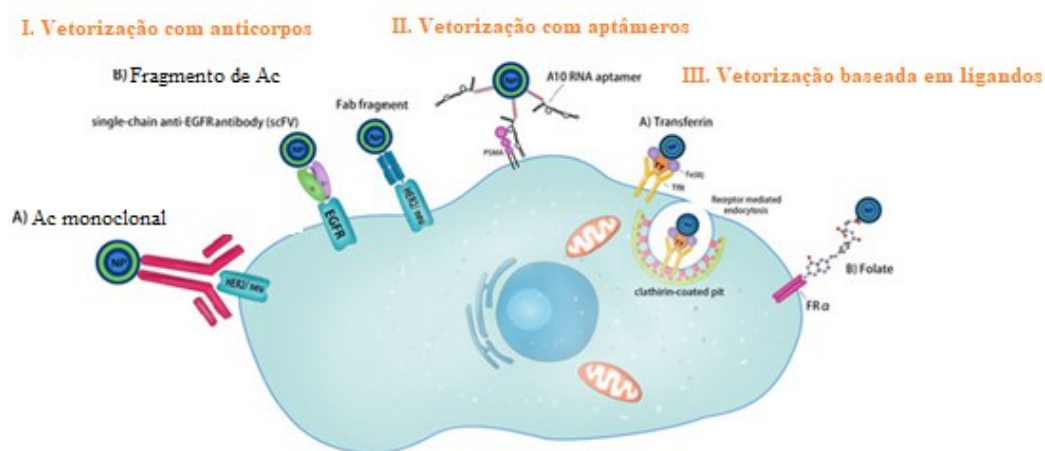
Por exemplo, os recetores de folato são extensamente expressos em tecidos tumorais (por vezes, até 300 vezes mais do que em tecidos normais), tornando-o num marcador tumoral altamente seletivo. A conjugação de folato e PEG demonstrou facilitar a distribuição de diversos fármacos através da sua interação com os recetores presentes na superfície dos tumores e, por consequente, facilita também a entrada dos agentes terapêuticos nas células tumorais. Um exemplo prático desta aplicação trata-se de uma emulsão de paclitaxel-PLGA, cuja superfície foi conjugada com folato e, consequentemente, demonstrou uma captação aumentada nas células tumorais em comparação com nanopartículas não modificadas (Pan & Feng, 2008).

Estas interações ligando-fármaco são utilizadas para conferir mais especificidade ao nanossistema, reduzir as interações não específicas e indesejadas, reduzir a localização de fármaco em tecidos periféricos, melhorar o perfil de distribuição e, por fim, aumentar a eficácia terapêutica (Wakaskar, 2018).

Os nanomedicamentos desenvolvidos para vetorização ativa, não só enfrentam os mesmos desafios da vetorização passiva, como também: (i) têm que demonstrar a capacidade de evasão de recetores alvo presentes em tecidos saudáveis; (ii)



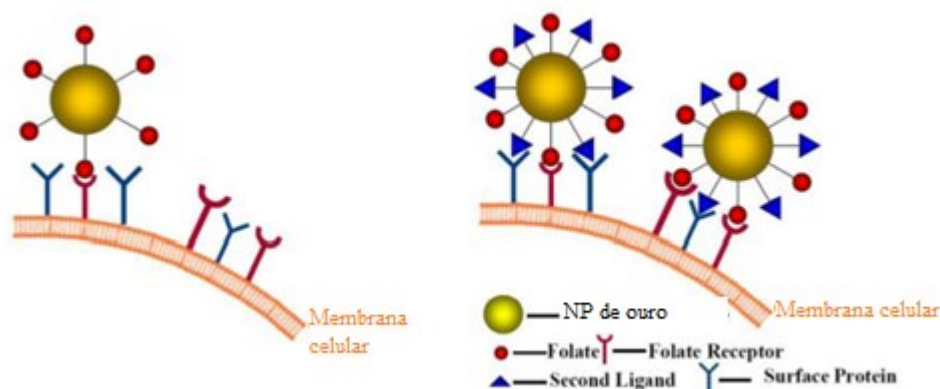
heterogeneidade de expressão dos recetores das células tumorais; (iii) possibilidade da interação com recetores que se encontram junto à vasculatura tumoral restringir a permeabilidade; (iv) possibilidade da existência de saturação de recetores, com consequente perda de eficácia terapêutica e (v) a expressão dos recetores pode variar de acordo com o microambiente tumoral e a fase da doença. Deste modo, torna-se essencial a realização de estudos quantitativos de biodistribuição/farmacocinéticos que identifiquem quais os sistemas que garantem a melhor hipótese de sucesso terapêutico (Duncan & Gaspar, 2011).



**Figura 18:** Diferentes estratégias de vetorização ativa, com a utilização de anticorpos, aptâmeros e outros ligandos (transferrina e folato) (Bazak et al., 2016)

Começaram também a surgir técnicas de multivetorização que geralmente descrevem superfícies de NP com um ou mais ligandos que reconhecem diferentes recetores nas mesmas ou em diferentes células (Kamaly et al., 2012).

Um exemplo de multivetorização foi demonstrado utilizando moléculas de glucose e ácido fólico, como ligandos, com o objetivo de atingir células tumorais que demonstrassem sobreexpressão de recetores de folato. Os resultados obtidos sugerem que o aumento do reconhecimento e internalização celular se deveu às interações multivalentes das NP de ouro com a superfície celular da células tumorais (Figura 19) (X. Li et al., 2011).



**Figura 19:** Representação da interação de NP de ouro com ligandos multivalentes, que permitem uma vetorização mais específica dos fármacos (X. Li et al., 2011)

No entanto, não obstante a vetorização múltipla se tratar de uma estratégia atrativa para incrementar a captação de NP pelas células cancerígenas, tem também associado um elevado nível de complexidade no que respeita ao desenvolvimento das NP. Para que a vetorização múltipla se demonstre eficaz, todas as suas propriedades físico-químicas têm de ser otimizadas. Tendo em conta as interações destas propriedades e a dificuldade de alterar uma sem interferir com outra, introduzir múltiplos tipos de ligandos nas NP pode potencialmente complicar esta otimização. Adicionalmente, quanto maior o número de componentes de uma NP, mais difícil se torna a reprodutibilidade em larga escala, a aprovação regulamentar e a aplicação na prática clínica (Kamaly et al., 2012). Todavia, o benefício destes sistemas de NP de dupla ou múltipla vetorização deve continuar a ser explorado e investigado.

### 3.3. Perspetiva do mercado

O desenvolvimento da nanotecnologia veio alterar o paradigma convencional da terapêutica oncológica. Trouxe diversas vantagens como a vetorização a determinados órgãos/células, permitindo a libertação da carga terapêutica no local desejado e a redução da toxicidade não específica. As modificações de superfície permitem ultrapassar problemas de estabilidade e/ou solubilidade e também, determinadas nanoestruturas apresentam propriedades únicas que possibilitam a utilização de técnicas como o magnetismo e terapia fototérmica.

Com as oportunidades surgem também os desafios. Começando na miríade de detalhes que implica a caracterização completa de uma NP, passando pela qualidade, segurança e capacidade de produção em larga escala, que tem de ser garantida, consistentemente, em todos os lotes e terminando no processo de regulamentação e aprovação. Apesar dos obstáculos, os nanomedicamentos têm surgido e são reconhecidos como ferramentas terapêuticas eficazes. Na Tabela I podemos visualizar exemplos de nanomedicamentos já aprovados por diferentes agências reguladoras, bem como alguns que se encontram em fase de ensaios clínicos.

**Tabela I:** Aplicação de nanotecnologia na terapêutica oncológica: exemplos de nanomedicamentos aprovados por diferentes agências reguladoras e também em fase de ensaios clínicos (Adaptado de Wang, Billone, & Mullett, 2013; Bobo, Robinson, Islam, Thurecht, & Corrie, 2016; Tran, DeGiovanni, Piel, & Rai, 2017)

Nome	Formulação	Princípio ativo	Aplicação terapêutica	Vantagem terapêutica	Status
<b>Doxil®/ Caexyl®</b>	Lipossoma (PEGuilado)	Doxorrubicina	Sarcoma de Kaposi associado ao HIV; cancro do ovário; cancro da mama metastático; mieloma múltiplo	Vetorização específica ao local desejado; Redução toxicidade	Aprovado
<b>DepoCyt®</b>	Lipossoma	Citarabina	Meningite linfomatosa	Vetorização específica ao local desejado; Redução toxicidade	Aprovado
<b>Myocet®</b>	Lipossoma	Doxorrubicina	Cancro da mama metastático	Diminuição da cardiotoxicidade da DOX	Aprovado
<b>Abraxane®</b>	NP-albumina	Paclitaxel	Cancro da mama; cancro do pulmão; cancro do pâncreas	Melhoria na solubilidade; Vetorização específica ao local desejado; Redução toxicidade	Aprovado
<b>Oncaspar®</b>	Conjugado polímero (PEG)-proteína	L-asparaginase	Leucemia linfoblástica aguda	Melhoria na estabilidade do conjugado proteico; Vetorização específica ao local desejado	Aprovado
<b>Genexol-PM®</b>	Micela polimérica PEG-PLA	Paclitaxel	Cancro da mama; cancro do pulmão; cancro do ovário	Melhoria na solubilidade; Administração de doses mais elevadas; Redução toxicidade	Aprovado
<b>NanoTherm®</b>	NP de óxido de ferro	-	Glioblastoma	Utilização de superparamagnetismo e terapia fototérmica local	Aprovado

**Tabela I (continuação):** Aplicação de nanotecnologia na terapêutica oncológica: exemplos de nanomedicamentos aprovados por diferentes agências reguladoras e também em fase de ensaios clínicos (Adaptado de Wang, Billone, & Mullett, 2013; Bobo, Robinson, Islam, Thurecht, & Corrie, 2016; Tran, DeGiovanni, Piel, & Rai, 2017)

Nome	Formulação	Princípio ativo	Aplicação terapêutica	Vantagem terapêutica	Status
<b>Kadcyla®</b> (Trastuzumab emtansina)	Conjugado anticorpo monoclonal	Maitansina	Cancro da mama	Vetorização específica (recetor HER-2)	Aprovado
<b>MM-398</b> (Onivyde®)	Lipossoma	Irinotecano	Cancro do pâncreas	Vetorização específica ao local desejado; Diminuição da toxicidade sistémica e efeitos secundários	Aprovado
<b>CPX-351</b> (Vyxeos®)	Lipossoma	Citarabina e Daunorrubicina (rácio molar 5:1)	Leucemia mieloide aguda	Vetorização específica ao local desejado; Rácio fixo que otimiza a terapêutica	Aprovado
<b>AuroLase®</b>	NP sílica-ouro	-	Cancro da próstata; Cancro da cabeça e pescoço; cancro do pulmão	Utilização de terapêutica fototérmica; Vetorização específica	Ensaios clínicos (Fase I)
<b>BIND-014</b>	NP polimérica dirigido a PSMA ( <i>prostate specific membrane antigen</i> )	Docetaxel	Cancro da próstata	Vetorização específica (PSMA);	Ensaios clínicos (Fase II)
<b>ThermoDox®</b>	Lipossoma sensível à temperatura + radiofrequência	Doxorrubicina	Carcinoma hepatocelular	Vetorização específica; Sensibilidade a estímulo; Aumento da concentração intratumoral	Ensaios clínicos (Fase III)



#### 4. QUESTÕES DE SEGURANÇA, ÉTICAS E REGULAMENTARES

A aplicação da nanotecnologia à terapêutica oncológica está associada a diversas oportunidades, sendo que as propriedades únicas das nanopartículas as tornam um alvo de investigação altamente desejado para que se consigam obter respostas mais eficazes no tratamento, diagnóstico e até mesmo na prevenção do cancro.

A nanomedicina já não está restringida a um conceito académico. Tal como previamente mencionado, alguns destes nanomedicamentos já estão aprovados e têm aplicabilidade clínica, enquanto outros se encontram em fases diversas de ensaios clínicos. Deste modo, a nanomedicina tornou-se uma nova realidade para a indústria farmacêutica, sendo que os seus recursos na promoção de novos nanofármacos têm vindo a aumentar com o objetivo de obterem posições de liderança nesta área (Boisseau & Loubaton, 2011). Trata-se de um mercado que vale biliões, sendo que, de acordo com o *BBC Research Report: “Nanoparticles in Biotechnology, Drug Development and Drug Delivery”* (2014), em 2013, valia cerca de 25 biliões de dólares e é expetável que em 2019 esse valor atinga os 79,8 biliões. Por este motivo, envolve diversas questões e entidades que necessitam de ser cuidadosamente controladas.

De facto, a nanotecnologia oferece novas oportunidades para a medicina, no entanto, visto tratar-se de um mercado ainda em expansão e com muito espaço para crescer, o seu verdadeiro benefício só poderá ser aferido no futuro. Esta perspetiva mais direcionada para o futuro torna a nanomedicina suscetível ao aparecimento de questões por parte da comunidade científica e da sociedade em geral, acerca dos potenciais riscos e benefícios (Boisseau & Loubaton, 2011). Portanto, torna-se essencial um cuidado redobrado e sem especular prematuramente sobre eventuais benefícios, antes de haver evidência científica e clínica. Por mais promissores que os novos nanomedicamentos aparentem ser, devem também ser feitas as considerações apropriadas em termos éticos e de segurança, que devem ser cuidadosamente refletidas no contexto de uma aprovação regulamentar rigorosa.

## Segurança

Quando surgem questões de segurança relativamente à nanotecnologia imediatamente se pensa na toxicidade destas novas NP e quais os efeitos da sua utilização na prática clínica.

Muitos dos primeiros nanomedicamentos aprovados surgiram com o objetivo de reduzir a toxicidade inerente aos próprios fármacos, como por exemplo, o Doxil<sup>®</sup>, cuja principal vantagem em relação à doxorrubicina livre era a redução da toxicidade. No entanto, as dúvidas e questões relativamente à toxicidade inerente aos próprios nanomateriais começaram a surgir, e de facto, determinadas categorias de NP frequentemente reportam efeitos citotóxicos (Wolfram et al., 2016).

As mesmas propriedades que tornam as NP tão atrativas para o seu avanço na nanomedicina podem também ser a causa da toxicidade não desejada com as células: tamanho, forma, natureza química, bem como, métodos de produção, armazenamento, estabilidade e agregação podem ter efeitos negativos na segurança do produto final. Surge assim um novo conceito de nanotoxicologia, definida como a ciência que estuda os efeitos toxicológicos das nanoestruturas e nanoequipamentos em organismos vivos e seu impacto no meio ambiente (Oberdörster, Oberdörster, & Oberdörster, 2005; Sufian, Khattak, Yousaf, & Rana, 2017).

Em virtude do crescimento exponencial desta área, a informação que existe acerca da toxicidade das NP não é robusta. Pouco se sabe relativamente aos efeitos tóxicos no ser humano e, até ao momento, os ensaios toxicológicos tradicionais ainda não estão bem adaptados aos nanomateriais. Adicionalmente, o impacto ambiental também não está devidamente caracterizado e existem diversas variáveis a ter em conta (por exemplo, as nanopartículas apresentam baixos limites de deteção e concentrações ambientais desconhecidas), tornando difícil retirar qualquer conclusão sobre os efeitos ecológicos e a estabilidade ambiental de nanomateriais. Qualquer alteração na sua estrutura química pode radicalmente alterar as suas propriedades, tornando-os em materiais tóxicos (Kabir, Kumar, Kim, Yip, & Sohn, 2018).

Tendo tudo isto em conta, para que se obtenha um desenvolvimento sustentável e seguro da nanotecnologia, tendo também em consideração o equilíbrio ambiental, torna-se necessária a adoção de algumas medidas. A própria CE já reconheceu que é necessário: (i) desenvolver metodologias para medições de rotina, (ii) desenvolver equipamentos e métodos para determinação do destino metabólico das NP e sua deteção



no meio ambiente, bem como avaliação da exposição, acompanhada de estudos epidemiológicos e (iii) compreender a toxicidade e ecotoxicidade das NP (Wagner et al., 2006). Para que passe da teoria à prática é necessária a colaboração de agências reguladoras, investigadores e indústria de modo a formular procedimentos de avaliação do risco e perceber se determinada nanotecnologia tem um risco-benefício favorável.

### Ética

A nanotecnologia como uma tecnologia que permite avanços significativos no futuro da medicina, levanta questões como a sensibilidade da informação genética, a lacuna que existe entre diagnóstico e terapêutica, o acesso a recursos de cuidados de saúde e tensões entre medicina holística e funcional. Para além disto, é previsível que a nanotecnologia acrescente novas possibilidades à relação humano-máquina tais como implantes ou chips que, eventualmente, irão levantar novas questões éticas direcionadas à nanomedicina (Boisseau & Loubaton, 2011).

Ao mesmo tempo, novos nanomedicamentos têm que ser avaliados tendo em conta vertentes éticas, legais e sociais. De acordo com Boisseau & Loubaton (2011), deve ser efetuada uma cuidadosa análise que reflita os seguintes princípios éticos: (i) não instrumentalização: não considerar seres humanos como um meio, mas sim como um fim próprio; (ii) privacidade: respeitar o indivíduo e não invadir o direito que tem à sua própria privacidade; (iii) equidade e não discriminação: todos devem ter acesso aos benefícios em causa e à igualdade de tratamento, a menos que existam razões plausíveis que justifiquem a diferença. Este é um tópico especialmente sensível devido a iniquidade com que somos confrontados entre países desenvolvidos e não desenvolvidos. O mercado da nanotecnologia expande-se essencialmente em países desenvolvidos e cria uma lacuna no acesso a estes benefícios a todos aqueles que não consigam pagar pela inovação (Graur et al., 2011); (iv) consentimento informado: os doentes não devem estar expostos a um tratamento ou investigação sem o seu livre e consentimento informado sobre os procedimentos que vão ser efetuados, os benefícios e riscos a que podem ser expostos (Graur et al., 2011) e (v) precaução: princípio ético que implica o dever moral de uma contínua avaliação do risco de exposição às novas nanotecnologias, visto que o impacto a longo prazo não é totalmente previsível.

As futuras inovações em nanomedicina devem ser analisadas do ponto de vista ético, político e social. O mais importante para uma análise proativa das novas

nanotecnologias é garantir que as autoridades competentes descubram e debatam, desde a fase em que a nanomedicina não passa de um projeto, as questões éticas que podem surgir. Também é necessário ter em conta que a competitividade económica pode entrar em conflito com a dignidade humana e que a liberdade irrestrita de alguns pode colocar em risco a saúde e segurança de outros. Torna-se assim essencial alcançar o equilíbrio entre os valores legítimos da nossa sociedade. Só assim se garante a aceitação ética e social das tecnologias nanomédicas por parte da população (Boisseau & Loubaton, 2011; Graur et al., 2011).

### Regulamentação

Ao longo dos anos, diversos nanomedicamentos para a terapêutica oncológica têm sido aprovados por diferentes agências reguladoras de saúde que garantem procedimentos legais obrigatórios de modo a assegurar que a sociedade tenha acesso a medicamentos e dispositivos médicos seguros e eficazes. No entanto, a Agência Europeia do Medicamento (EMA), a FDA e outros órgãos reguladores ainda não implementaram diretrizes específicas para os nanomedicamentos. Na ausência de evidências e orientações, as decisões regulatórias sobre determinadas nanoterapias são baseadas na avaliação individual, caso a caso, de benefícios e riscos. Uma regulamentação eficaz exige um alto nível de qualificação em tecnologias inovadoras e trata-se de um processo demorado que pode resultar em atrasos na aprovação de determinados nanomedicamentos (Duncan & Gaspar, 2011; Wicki, Witzigmann, Balasubramanian, & Huwyler, 2015). Por exemplo, a FDA colabora com o *Nanotechnology Characterisation Laboratory* (NCL) para facilitar a revisão regulamentar e a caracterização mais detalhada dos nanomedicamentos (Wicki et al., 2015). No âmbito do projeto Horizon 2020, a *European Technology Platform on Nanomedicine* (ETPN) criou o *European Nanomedicine Characterisation Laboratory* (EUNCL), cujo objetivo é criar um conjunto de testes transdisciplinares que abranja diversos ensaios de caracterização pré-clínica (biológicos, físicos, químicos e *in vivo*), permitindo que os investigadores obtenham uma compreensão plena da biodistribuição, metabolismo, farmacocinética, perfis de segurança e efeitos imunológicos das suas nanoformulações (European Union's Horizon 2020, 2017).

As questões regulamentares não são apenas relevantes para todo o processo de aprovação e ensaios clínicos, mas também para o desenvolvimento de tecnologia de

ponta, de modo a obter uma caracterização mais correta dos nanomedicamentos e monitorizar a sua qualidade. Em particular, há a necessidade urgente de criar diretrizes claras para a caracterização e controlo de qualidade de possíveis nano-similares, ou seja, derivados genéricos de nanomedicamentos já aprovados (Wicki et al., 2015).

Concluindo, a aprovação regulamentar da terapêutica nanomédica permanece um desafio. Com o aparecimento de nanotransportadores mais desenvolvidos e com multifuncionalidades é expectável que a aprovação dos nanomedicamentos se torne um processo ainda mais complexo. Será fundamental que as agências reguladoras refinem e padronizem os requisitos para a aprovação de nanomedicamentos, a fim de fornecer aos pacientes acesso oportuno a tratamentos inovadores (Wicki et al., 2015).



## 5. CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS

Não há dúvida que a evolução da nanotecnologia implica avanços significativos na área da medicina, nomeadamente na terapêutica oncológica. As opções de *design* e função de nanoestruturas são variadas, sendo que a lista de potenciais aplicações médicas continua a crescer, revelando-se como estratégias alternativas e eficazes às terapêuticas convencionais. A sua aplicação em áreas onde a terapêutica oncológica convencional falha e onde estes nanossistemas se demonstram vantajosos prova o verdadeiro sucesso desta abordagem. São diversas as vantagens que tornam as nanoplataformas atrativas, incluindo as suas reduzidas dimensões, que possibilita a veiculação mais específica dos fármacos e a sua subsequente acumulação nos tecidos tumorais. A evolução da terapêutica oncológica associada à nanotecnologia nem está tanto relacionada com o aparecimento de fármacos inovadores, mas sim com a exploração de novas estratégias de veiculação de fármacos já conhecidos e bem caracterizados que garantam algumas das potencialidades já mencionadas ao longo deste trabalho.

Há uma clara tendência do desenvolvimento de nanomedicamentos que dependem de processos de vetorização ativa. Por exemplo, a utilização de ligandos de afinidade garante uma maior acumulação de fármaco junto ao local alvo e, consequentemente, aumenta a eficácia terapêutica e reduz a toxicidade inespecífica. Certamente, o futuro da vetorização ativa passará pela utilização de múltiplos ligandos específicos para diferentes alvos. É também expectável que com esta evolução, a utilização de materiais mais complexos, com diferentes componentes e funções (por exemplo, nanopartículas de sílica, metálicas, nanocristais) comecem a marcar a sua posição no mercado. A multifuncionalidade é um tópico a ter em conta, nomeadamente, com o aparecimento de nanoformulações que tenham capacidade terapêutica e de diagnóstico. Este é um conceito recente, conhecido como *teranóstico*, que emprega modalidades de imagem como MRI, imagem ótica (fluorescência) e modalidades terapêuticas que envolvem, por exemplo, terapias fototérmicas ou libertação controlada de fármacos (Bobo et al., 2016). Dentro desta multifuncionalidade, também será interessante explorar nanomateriais com propriedades de libertação controlada combinados com agentes de contraste que permitam uma visualização e controlo do tratamento através de processos imagiológicos.

Dito isto, sem dúvida que se trata de uma área bastante promissora, que tem vindo a revelar o seu potencial na aplicação à terapêutica oncológica. No entanto, é importante relembrar que, tal como qualquer outro tratamento, tem desafios a superar. Problemas complexos requerem soluções complexas e uma abordagem multidisciplinar aparenta ser a melhor opção. A tendência é a de colaboração entre comunidade científica, profissionais de saúde, indústria farmacêutica e agências reguladoras, que certamente irá contribuir para a inauguração da próxima era de nanomedicina no tratamento do cancro.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- Adhikari, P., Pal, P., Das, A. K., Ray, S., Bhattacharjee, A., & Mazumder, B. (2017). Nano lipid-drug conjugate: An integrated review. *International Journal of Pharmaceutics*, 529(1–2), 629–641. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.07.039>
- Ajitha, A. R., Akhina, H., Mathew, L. P., & Thomas, S. (2018). Quantum Dots: A Promising Tool for Biomedical application. *JSM Nano-Technol Nanomed*, 6(2), 1066. Disponível em: <https://www.jscimedcentral.com/Nanotechnology/nanotechnology-6-1066.pdf>
- Akbarzadeh, A., Rezaei-sadabady, R., Davaran, S., Joo, S. W., & Zarghami, N. (2013). Liposome: classification , preparation , and applications. *Nanoscale Research Letters*, 8(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-102>
- Anselmo, A. C., & Mitragotri, S. (2016). Nanoparticles in the clinic. *Bioengineering & Translational Medicine*, 1(1), 10–29. <https://doi.org/10.1002/btm2.10003>
- Aschberger, K., Johnston, H. J., Stone, V., Aitken, R. J., Tran, C. L., Hankin, S. M., ... Christensen, F. M. (2010). Review of fullerene toxicity and exposure - Appraisal of a human health risk assessment, based on open literature. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 58(3), 455–473. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.08.017>
- Bangham, A. D. (1993). Liposomes: the Babraham connection. *Chemistry and Physics of Lipids*, 64(1–3), 275–285. [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(93\)90071-A](https://doi.org/10.1016/0009-3084(93)90071-A)
- Bangham, A. D., Standish, M. M., & Watkins, J. C. (1965). Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *Journal of Molecular Biology*, 13(1), IN26-IN27. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(65\)80093-6](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(65)80093-6)
- Bardania, H., Tarvirdipour, S., & Dorkoosh, F. (2017). Liposome-targeted delivery for highly potent drugs. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 45(8), 1478–1489. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1290647>
- Barreto, J. A., O'Malley, W., Kubeil, M., Graham, B., Stephan, H., & Spiccia, L. (2011). Nanomaterials: Applications in cancer imaging and therapy. *Advanced Materials*, 23(12). <https://doi.org/10.1002/adma.201100140>
- Barua, S., Yoo, J., Kolhar, P., Wakankar, A., Gokarn, Y. R., & Mitragotri, S. (2013). Particle shape enhances specificity of antibody-displaying nanoparticles. *Pnas*, 110(9), 3270–3275. <https://doi.org/10.1073/pnas.1216893110/-/DCSupplemental.www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1216893110>
- Baumann, A., Tuerck, D., Prabhu, S., Dickmann, L., & Sims, J. (2014). Pharmacokinetics, metabolism and distribution of PEGs and PEGylated proteins: Quo vadis? *Drug Discovery Today*, 19(10), 1623–1631. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.06.002>
- Bazak, R., Houri, M., Achy, S. El, Kamel, S., Officer, H., Refaat, T., ... Lurie, R. H. (2016). Cancer active targeting by nanoparticles: a comprehensive review of literature, 141(5), 769–784. <https://doi.org/10.1007/s00432-014-1767-3.Cancer>
- Blanco, E., Shen, H., & Ferrari, M. (2015). Principles of nanoparticles design for

- overcoming biological barriers for drug delivery. *Nat Biotechnol*, 33(9), 941–951. <https://doi.org/10.1038/nbt.3330>. Principles
- Bobo, D., Robinson, K. J., Islam, J., Thurecht, K. J., & Corrie, S. R. (2016). Nanoparticle-Based Medicines: A Review of FDA-Approved Materials and Clinical Trials to Date. *Pharmaceutical Research*, 33(10), 2373–2387. <https://doi.org/10.1007/s11095-016-1958-5>
- Boisseau, P., & Loubaton, B. (2011). Nanomedicine, nanotechnology in medicine. *Comptes Rendus Physique*, 12(7), 620–636. <https://doi.org/10.1016/j.crhy.2011.06.001>
- Cardoso, V. F., Francesko, A., Ribeiro, C., Bañobre-López, M., Martins, P., & Lanceros-Mendez, S. (2018). Advances in Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications. *Advanced Healthcare Materials*, 7(5), 1–35. <https://doi.org/10.1002/adhm.201700845>
- Charurvedi, S., & Dave, P. N. (2012). Microscopy in Nanotechnology. *Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology*, 14–16.
- Chawla, P., Chawla, V., Maheshwari, R., A. Saraf, S., & K. Saraf, S. (2010). Fullerenes: From Carbon to Nanomedicine. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 10(8), 662–677. <https://doi.org/10.2174/138955710791572497>
- Couvreux, P., Tulkens, P., Roland, M., Trouet, A., & Speiser, P. (1977). Nanocapsules: A New Type of Lysosomotropic carrier. *North-Holland Publishing Company*, 84(2), 0–3. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0014-5793\(77\)80717-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0014-5793(77)80717-5)
- Duncan, R., & Gaspar, R. (2011). Nanomedicine(s) under the microscope. *Molecular Pharmaceutics*, 8(6), 2101–2141. <https://doi.org/10.1021/mp200394t>
- ESF. (2004). *ESF Forward Look on Nanomedicine 2005*. *Nature Biotechnology* (Vol. 24). <https://doi.org/10.1038/nbt0206-121>
- European Union's Horizon 2020. (2017). EUNCL - European Nanomedicine Characterisation Laboratory. Retrieved October 12, 2018, from <http://www.euncl.eu/>
- Ezzati, M., Lopez, A. D., Rodgers, A., Vander, H. S., & Murray, C. J. (2002). Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *The Lancet*, 360(0140-6736), 1347–1360. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)11403-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)11403-6)
- Fatal, V., & Eugénio, J. (2010). Evolução da Nanotecnologia: abordagem nacional e internacional. *Inpi*, 1–22.
- Feng, Q., Zhang, L., Sun, J., & Jiang, X. (2016). Synthesis of protein nanoparticles for drug delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 12(2), 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.12.039>
- Fukumura, D., Duda, D. G., Munn, L. L., & Jain, R. K. (2011). Tumor Microvasculature and Microenvironment: Novel Insights Through Intravital Imaging in Pre-Clinical Models. *Microcirculation*, 17(3), 206–225. <https://doi.org/10.1111/j.1549-8719.2010.00029.x>. Tumor



- Gao, X., Cui, Y., Levenson, R. M., Chung, L. W. K., & Nie, S. (2004). In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nature Biotechnology*, 22(8), 969–976. <https://doi.org/10.1038/nbt994>
- Graur, F., Elisei, R., Szasz, A., Neagos, H. C., Muresan, A., Furcea, L., ... Diudea, M. (2011). Ethical Issues in Nanomedicine. *Meditech*, 36, 99–12.
- Guo, T., Lin, M., Huang, J., Zhou, C., Tian, W., Yu, H., ... Feng, X. (2018). The Recent Advances of Magnetic Nanoparticles in Medicine. *Journal of Nanomaterials*, 2018, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/7805147>
- Hafner, A., Lovrić, J., Lakoš, G. P., & Pepić, I. (2014). Nanotherapeutics in the EU: an overview on current state and future directions. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 1005–23. <https://doi.org/10.2147/IJN.S55359>
- Hamilton, A., Biganzoli, L., Coleman, R., Mauriac, L., Hennebert, P., Awada, A., ... de Valeriola, D. (2002). EORTC 10968: A phase I clinical and pharmacokinetic study of polyethylene glycol liposomal doxorubicin (Caelyx®, Doxil®) at a 6-week interval in patients with metastatic breast cancer. *Annals of Oncology*, 13(6), 910–918. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdf157>
- He, H., Pham-Huy, L. A., Dramou, P., Xiao, D., Zuo, P., & Pham-Huy, C. (2013). Carbon nanotubes: Applications in pharmacy and medicine. *BioMed Research International*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/578290>
- Hook, S. S., Ptak, K., Farrell, D., Hinkal, G., Panaro, N., & Groszinski, P. (2010). Cancer Nanotechnology Plan, (November).
- IARC, I. A. for R. on C. (2016). Cancer Fact Sheets: All Cancers excluding Non-Melanoma Skin Cancer. *Globocan 2012*, 1–10.
- Jain, R. K. (1988). Determinants of Tumor Blood Flow : A Review Determinants of Tumor Blood Flow : A Review1. *Cancer Research*, 3890(10), 2641–2658. <https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.1.1.241>
- Jain, R. K., & Stylianopoulos, T. (2010). Delivering nanomedicine to solid tumors. *Microcirculation*. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2010.139>. Delivering
- Jawahar, N., & Meyyanathan, S. (2012). Polymeric nanoparticles for drug delivery and targeting: A comprehensive review. *International Journal of Health & Allied Sciences*, 1(4), 217. <https://doi.org/10.4103/2278-344X.107832>
- Kabir, E., Kumar, V., Kim, K.-H., Yip, A. C. K., & Sohn, J. R. (2018). Environmental impacts of nanomaterials. *Journal of Environmental Management*, 225(May), 261–271. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.087>
- Kamaly, N., Xiao, Z., Valencia, P. M., Radovic-Moreno, A. F., & Farokhzad, O. C. (2012). Targeted polymeric therapeutic nanoparticles: design, development and clinical translation. *The Royal Society of Chemistry*. <https://doi.org/10.1039/c2cs15344k>
- Khawar, I. A., Kim, J. H., & Kuh, H. J. (2015). Improving drug delivery to solid tumors: Priming the tumor microenvironment. *Journal of Controlled Release*, 201, 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.12.018>

- Klostranec, J. M., & Chan, W. C. W. (2006). Quantum Dots in Biological and Biomedical Research: Recent Progress and Present Challenges. *Advanced Materials*, 18(15), 1953–1964. <https://doi.org/10.1002/adma.200500786>
- Krukemeyer, M., Krenn, V., Huebner, F., Wagner, W., & Resch, R. (2015). History and Possible Uses of Nanomedicine Based on Nanoparticles and Nanotechnological Progress. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 06(06). <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000336>
- Kumar, S., Dilbaghi, N., Saharan, R., & Bhanjana, G. (2012). Nanotechnology as Emerging Tool for Enhancing Solubility of Poorly Water-Soluble Drugs. *BioNanoScience*, 2(4), 227–250. <https://doi.org/10.1007/s12668-012-0060-7>
- Langer, R., & Folkman, J. (1976). Polymers for the sustained release of proteins and other macromolecules. *Nature*, 263(5580), 797–800. <https://doi.org/10.1038/263797a0>
- Lee, C. C., MacKay, J. A., Fréchet, J. M. J., & Szoka, F. C. (2005). Designing dendrimers for biological applications. *Nature Biotechnology*, 23(12), 1517–1526. <https://doi.org/10.1038/nbt1171>
- Lee, Y., & Thompson, D. H. (2018). Stimuli-Responsive Liposomes for Drug Delivery, 4(11), 1–76. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(16\)30265-0](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)30265-0). Cost-effectiveness
- Leu, A. J., Berk, D. A., Lymboussaki, A., Alitalo, K., & Jain, R. K. (2000). Absence of Functional Lymphatics within a Murine Sarcoma : A Molecular and Functional Evaluation Advances in Brief Absence of Functional Lymphatics within a Murine Sarcoma : A Molecular and Functional Evaluation 1, 4324–4327.
- Li, X., Zhou, H., Yang, L., Du, G., Pai-Panandiker, A., Huang, X., & Yan, B. (2011). Enhancement of cell recognition in vitro by dual-ligand cancer targeting gold nanoparticles. *Biomaterials*, 32(10), 2540–2545. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.12.031>
- Li, Z., Tan, S., Li, S., Shen, Q., & Wang, K. (2017). Cancer drug delivery in the nano era: An overview and perspectives (Review). *Oncology Reports*, 38(2), 611–624. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5718>
- Lohcharoenkal, W., Wang, L., Chen, Y. C., & Rojanasakul, Y. (2014). Protein nanoparticles as drug delivery carriers for cancer therapy. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/180549>
- Lu, K. H., Wood, M. E., Daniels, M., Burke, C., Ford, J., Kauff, N. D., ... Hughes, K. S. (2014). American society of clinical oncology expert statement: Collection and use of a cancer family history for oncology providers. *Journal of Clinical Oncology*, 32(8), 833–840. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.50.9257>
- Mahmoudi, M., Sant, S., Wang, B., Laurent, S., & Sen, T. (2011). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): Development, surface modification and applications in chemotherapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(1–2), 24–46. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2010.05.006>
- Maysinger, D., Lovrić, J., Eisenberg, A., & Savić, R. (2007). Fate of micelles and quantum dots in cells. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*,

- 65(3), 270–281. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2006.08.011>
- Miranda, N., & Portugal, C. (2016). Doenças Oncológicas em Números 2015 - Programa Nacional para as Doenças Oncológicas. *Dgs*, 5–65. <https://doi.org/ISSN:2183-0746>
- Misra, R., Acharya, S., & Sahoo, S. K. (2010). Cancer nanotechnology: Application of nanotechnology in cancer therapy. *Drug Discovery Today*, 15(19–20), 842–850. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.08.006>
- Mohammed, L., Gomaa, H. G., Ragab, D., & Zhu, J. (2016). Magnetic nanoparticles for environmental and biomedical applications: A review. *Particuology*, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.partic.2016.06.001>
- Moorthi, C., Manavalan, R., & Kathiresan, K. (2011). Nanotherapeutics to overcome conventional cancer chemotherapy limitations. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 14(1), 67–77. <https://doi.org/10.18433/J30C7D>
- Moreira, A. F., Dias, D. R., & Correia, I. J. (2016). Stimuli-responsive mesoporous silica nanoparticles for cancer therapy: A review. *Microporous and Mesoporous Materials*, 236, 141–157. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2016.08.038>
- Moreno-Vega, A. I., Gómez-Quintero, T., Nuñez-Anita, R. E., Acosta-Torres, L. S., & Castaño, V. (2012). Polymeric and ceramic nanoparticles in biomedical applications. *Journal of Nanotechnology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/936041>
- Moss, D. M., & Siccardi, M. (2014). Optimizing nanomedicine pharmacokinetics using physiologically based pharmacokinetics modelling. *British Journal of Pharmacology*, 171(17), 3963–3979. <https://doi.org/10.1111/bph.12604>
- Mota Pinto, A. (2013). *Fisiopatologia - Fundamentos e Aplicações*. (Lidel, Ed.) (2<sup>a</sup> edição). Lisboa: Lidel.
- Nakamura, Y., Mochida, A., Choyke, P. L., & Kobayashi, H. (2016). Nanodrug Delivery: Is the Enhanced Permeability and Retention Effect Sufficient for Curing Cancer? *Bioconjugate Chemistry*, 27(10), 2225–2238. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00437>
- Noriega-Luna, B., Godínez, L. A., Rodríguez, F. J., Rodríguez, A., Zaldívar-Lelo De Larrea, G., Sosa-Ferreira, C. F., ... Bustos, E. (2014). Applications of dendrimers in drug delivery agents, diagnosis, therapy, and detection. *Journal of Nanomaterials*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/507273>
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., & Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113(7), 823–839. <https://doi.org/10.1289/ehp.7339>
- Padera, T. P., Stoll, B. R., Tooredman, J. B., Capen, D., Di Tomaso, E., & Jain, R. K. (2004). Cancer cells compress intratumour vessels. *Nature*, 427(6976), 695. <https://doi.org/10.1038/427695a>
- Pan, J., & Feng, S. S. (2008). Targeted delivery of paclitaxel using folate-decorated poly(lactide)-vitamin E TPGS nanoparticles. *Biomaterials*, 29(17), 2663–2672.

<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.02.020>

- Papaléo Netto, M. (2002). *Gerontologia - a velhice e o envelhecimento em visão globalizada*. (Atheneu, Ed.) (2ª Edição). São Paulo.
- Parreira, D. B., & Eugénio, J. (2011). Nanopartículas para aplicação oncológica. *Inpi*, 1–32.
- Partha, R., & Conyers, J. L. (2009). Biomedical applications of functionalized fullerene-based nanomaterials. *International Journal Od Nanomedicine*, 261–275.
- Parveen, S., Misra, R., & Sahoo, S. K. (2012). Nanoparticles: A boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 8(2), 147–166. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.05.016>
- Petros, R. A., & Desimone, J. M. (2010). Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9(8), 615–627. <https://doi.org/10.1038/nrd2591>
- Piktel, E., Niemirowicz, K., Watek, M., Wollny, T., Deptuła, P., & Bucki, R. (2016). Recent insights in nanotechnology-based drugs and formulations designed for effective anti-cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 14(1), 1–23. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0193-x>
- Pisanic II, T. R., Zhang, Y., & Wang, T. H. (2015). Quantum Dots in Diagnostics and Detection: Principles and Paradigms. *Analyst*, 31(3), 477–479. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.12.017>. Two-stage
- RORENO. (2016). *Registo Oncológico Nacional 2010*. Porto.
- Satalkar, P., Elger, B. S., & Shaw, D. M. (2016). Defining Nano, Nanotechnology and Nanomedicine: Why Should It Matter? *Science and Engineering Ethics*, 22(5), 1255–1276. <https://doi.org/10.1007/s11948-015-9705-6>
- Schütz, I., Lopez-Hernandez, T., Gao, Q., Puchkov, D., JaBerlinbs, S., Nordmeyer, D., ... Haucke, V. (2016). Lysosomal dysfunction caused by cellular accumulation of silica nanoparticles. *Journal of Biological Chemistry*, 291(27), 14170–14184. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.710947>
- Sebastian, R. (2017). Nanomedicine - the Future of Cancer Treatment: A Review. *Journal of Cancer Prevention & Current Research*, 8(1), 1–6. <https://doi.org/10.15406/jcpcr.2017.08.00265>
- Shen, Shihong, Wu, Youshen, Liu, Yongchun, Wu, D. (2017). High drug-loading nanomedicines: progress, current status, and prospects, 4085–4109. <https://doi.org/10.2147/IJN.S132780>
- Singh, P., Pandit, S., Mokkapati, V. R. S. S., Garg, A., Ravikumar, V., & Mijakovic, I. (2018). Gold Nanoparticles in Diagnostics and Therapeutics for Human Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 1979. <https://doi.org/10.3390/ijms19071979>
- Stern, S. T., Adiseshaiah, P. P., & Crist, R. M. (2012). Autophagy and lysosomal dysfunction as emerging mechanisms of nanomaterial toxicity. *Particle and Fibre*

- Toxicology*, 9(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-9-20>
- Sufian, M. M., Khattak, J. Z. K., Yousaf, S., & Rana, M. S. (2017). Safety issues associated with the use of nanoparticles in human body. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 19, 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.05.012>
- Tinkle, S., Mcneil, S. E., Mühlebach, S., Bawa, R., Borchard, G., Barenholz, Y. C., ... Desai, N. (2014). Nanomedicines: Addressing the scientific and regulatory gap. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1313(1), 35–56. <https://doi.org/10.1111/nyas.12403>
- Toy, R., Peiris, P. M., Ghaghada, K. B., & Karathanasis, E. (2014). Shaping cancer nanomedicine: The effect of particle shape on the in vivo journey of nanoparticles. *Nanomedicine*, 9(1), 121–134. <https://doi.org/10.2217/nnm.13.191>
- Tran, S., DeGiovanni, P.-J., Piel, B., & Rai, P. (2017). Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery. *Clinical and Translational Medicine*, 6(1), 44. <https://doi.org/10.1186/s40169-017-0175-0>
- Trouet, A., Masquelier, M., Baurain, R., & Deprez-De Campeneere, D. (1982). A covalent linkage between daunorubicin and proteins that is stable in serum and reversible by lysosomal hydrolases, as required for a lysosomotropic drug-carrier conjugate: in vitro and in vivo studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79(2), 626–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.79.2.626>
- Udhrain, A., Skubitz, K. M., & Northfelt, D. W. (2007). Pegylated liposomal doxorubicin in the treatment of AIDS-related Kaposi's sarcoma. *International Journal of Nanomedicine*, 2(3), 345–352.
- Van Broekhuizen, P., Van Veelen, W., Streekstra, W. H., Schulte, P., & Reijnders, L. (2012). Exposure limits for nanoparticles: Report of an international workshop on nano reference values. *Annals of Occupational Hygiene*, 56(5), 515–524. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mes043>
- Ventola, C. L. (2017). Progress in Nanomedicine: Approved and Investigational Nanodrugs. *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 42(12), 742–755. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29234213> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5720487>
- Wagner, V., Husing, B., Gaisser, S., & Bock, A.-K. (2006). Nanomedicine : Drivers for development and possible impacts. *European Commission's Joint Research Centre Report No. 46744*, 1–116. Disponível em: <http://ftp.jrc.es/EURdoc/JRC46744.pdf>
- Wakaskar, R. R. (2017). Passive and Active Targeting in Tumor Microenvironment. *International Journal of Drug Development and Research*, 9(2), 37–41. Disponível em: <http://www.ijddr.in/drug-development/passive-and-active-targeting-in-tumor-microenvironment.php?aid=19478#20%0A> <http://www.ijddr.in/drug-development/passive-and-active-targeting-in-tumor-microenvironment.php?aid=19478>
- Wakaskar, R. R. (2018). Promising effects of nanomedicine in cancer drug delivery.

- Wang, R., Billone, P. S., & Mullett, W. M. (2013). Nanomedicine in Action: An Overview of Cancer Nanomedicine on the Market and in Clinical Trials. *Journal of Nanomaterials*, 3(6). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/2013/629681>
- Weber, S., Zimmer, A., & Pardeike, J. (2014). Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC) for pulmonary application: A review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 86(1), 7–22. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.08.013>
- White, M. C., Holman, D. M., Boehm, J. E., Peipins, L. A., Grossman, M., & Jane Henley, S. (2014). Age and cancer risk: A potentially modifiable relationship. *American Journal of Preventive Medicine*, 46(3 SUPPL. 1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2013.10.029>
- Wicki, A., Witzigmann, D., Balasubramanian, V., & Huwyler, J. (2015). Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications. *Journal of Controlled Release*, 200, 138–157. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.12.030>
- Wilchek, M., Levy, R., Maron, R., Arnon, R., & Sela, M. (1975). The Covalent Binding of Daunomycin and Adriamycin to Antibodies, with Retention of Both Drug and Antibody Activities. *Cancer Research*, 35(5), 1175–1181.
- Wilczewska, A. Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K. H., & Car, H. (2012). Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacol Rep*, 64(5), 1020–1037. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(12\)70901-5](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(12)70901-5)
- Wild, C. P., Stewart, B. W., & Wild, C. (2014). World Cancer Report 2014, 630. <https://doi.org/9283204298>
- Wolfram, J., Motao, Z., Yang, Y., Shen, J., Gentile, E., Paolino, D., ... Zhao, Y. (2016). Safety of nanoparticles in medicine. *Curr Drug Targets.*, 93(4), 292–297. <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2015.12.017>. Women
- World Health Organization. (2002). National Cancer Control Programmes. *National Cancer Control Programmes. Policies and Managerial Guidelines*, 180. Disponível em: <http://www.hdnnet.org>
- Wu, L. P., Ficker, M., Christensen, J. B., Trohopoulos, P. N., & Moghimi, S. M. (2015). Dendrimers in Medicine: Therapeutic Concepts and Pharmaceutical Challenges. *Bioconjugate Chemistry*, 26(7), 1198–1211. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00031>
- Yadav, B., & Kumar, R. (2008). Structure, properties and applications of fullerenes. *International Journal of Nanotechnology*, 2(1), 15–24. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/BAL\\_YADAV/publication/233816061\\_Structure\\_properties\\_and\\_applications\\_of\\_fullerenes/links/0912f50bd85be2572d000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/BAL_YADAV/publication/233816061_Structure_properties_and_applications_of_fullerenes/links/0912f50bd85be2572d000000.pdf)
- Yokoyama, M. (2011). Clinical Applications of Polymeric Micelle Carrier Systems in Chemotherapy and Image Diagnosis of Solid Tumors. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 3(4), 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.jecm.2011.06.002>

- Yokoyama, M., Miyauchi, M., Yamada, N., Okano, T., Sakurai, Y., & Kataoka, K. (1990). Characterization and Anticancer Activity of the Micelle-forming Polymeric Anticancer Drug Adriamycin-conjugated Poly ( ethylene glycol ) -Poly ( aspartic acid ) Block Copolymer Characterization. *Cancer Research*, 15(6), 1693–1700. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.08.011>